



SKRIPSI –TK141581

**PRODUKSI GULA REDUKSI DARI SABUT
KELAPA MENGGUNAKAN KOMBINASI
TEKNOLOGI AIR SUBKRITIS (DENGAN GAS
PENEKAN N_2) DAN HIDROLISIS ENZIMATIK**

Oleh :

Enrico Gautama

2313100089

Aulia Karima

2313100167

Dosen Pembimbing :

Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng

NIP. 1966 05 23 1991 02 1001

**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2017**



FINAL PROJECT –TK141581

**PRODUCTION OF REDUCING SUGAR
FROM COCONUT HUSK USING
COMBINATION OF SUBCRITICAL WATER
TECHNOLOGY (WITH N₂ AS THE
PRESSING GAS) AND ENZYMATIC
HYDROLYSIS**

By :

Enrico Gautama

2313100089

Aulia Karima

2313100167

Advisor :

Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng

NIP. 1966 05 23 1991 02 1001

**DEPARTMENT OF CHEMICAL ENGINEERING
FACULTY OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2017**

LEMBAR PENGESAHAN

Produksi Gula Reduksi dari Sabut Kelapa Menggunakan Kombinasi Teknologi Air Subkritis (dengan Gas Penekan N₂) dan Hidrolisis Enzimatik

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Teknik pada Program Studi S-1 Departemen Teknik Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

Oleh:

Enrico Gautama

2313 100 089

Aulia Karima

2313 100 167

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir:

1. Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng (Pembimbing 1)
2. Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng (Penguji I)
3. Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D (Penguji II)
4. Ir. Nuniek Hendrianie, M.T



PRODUKSI GULA REDUKSI DARI SABUT KELAPA MENGGUNAKAN KOMBINASI TEKNOLOGI AIR SUBKRITIS (DENGAN GAS PENEKAN N₂) DAN HIDROLISIS ENZIMATIK

Nama : 1. Enrico Gautama (2313 100 089)
2. Aulia Karima (2313 100 167)
Departemen : Teknik Kimia
Dosen : Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M. Eng

ABSTRAK

Sabut kelapa memiliki kandungan lignoselulosa yang dapat dimanfaatkan menjadi sumber energi. Pada penelitian ini, dilakukan kombinasi *pretreatment* air subkritis menggunakan gas penekan N₂ dan hidrolisis enzimatik untuk meningkatkan dekomposisi kompleks lignoselulosa menjadi gula reduksi. Sabut kelapa diberi *pretreatment* air subkritis pada reaktor *batch* dengan variabel tekanan 60, 80, dan 100 bar, suhu 150, 170, dan 190 °C, serta waktu reaksi 20, 40 dan 60 menit. Produk yang dihasilkan dari *pretreatment* air subkritis yaitu berupa *liquid* yang mengandung gula dan padatan. Produk padatan kemudian dilanjutkan dengan hidrolisis enzimatik menggunakan campuran enzim selulase dan xilanase. Padatan hasil *pretreatment* juga dianalisa menggunakan TGA (*thermogravimetric analysis*) untuk mengetahui stabilitas termal dan analisa SEM (*scanning electron microscopy*) untuk mengetahui struktur morfologi permukaan padatan. Analisa XRD (*x-ray diffraction*) dilakukan untuk mengetahui struktur kristalin padatan dan analisa FTIR (*fourier transform infrared spectroscopy*) dilakukan untuk mempelajari perubahan komposisi kimia dalam padatan. Sedangkan, produk *liquid* dianalisa menggunakan metode DNS (*dinitrosalicylic acid*) untuk mendapatkan konsentrasi gula reduksi. *Yield* gula reduksi

tertinggi oleh *pretreatment* air subkritis didapatkan sebesar 0,146 g/g sabut kelapa yang didapatkan pada kondisi operasi 80 bar, 150 °C dan 40 menit. Pada hidrolisis enzimatik, yield tertinggi dari padatan hasil hidrolisis enzimatik yaitu sebesar 9,91 g/g sabut kelapa pada sampel air subkritis dengan kondisi operasi suhu 150 °C, tekanan 100 bar dan waktu reaksi 40 menit. Sedangkan, berat total gula reduksi tertinggi didapatkan pada variabel 80 bar, 150°C dan 40 menit yaitu sebesar 1,4 g.

Kata kunci: air subkritis; gula; lignoselulosa; lignin; sabut kelapa

PRODUCTION OF REDUCING SUGAR FROM COCONUT HUSK USING COMBINATION OF SUBCRITICAL WATER TECHNOLOGY (WITH N₂ AS THE PRESSING GAS) AND ENZYMATIC HYDROLYSIS

Name : 1. Enrico Gautama (2313 100 089)
2. Aulia Karima (2313 100 167)
Department : Chemical Engineering
Advisor : Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M. Eng

ABSTRACT

Coconut husk as lignocellulosic biomass can be utilized to produce reducing sugars and then fermented into hydrogen, a potential alternative energy source for the limited fossil fuel. In this study, enzymatic hydrolysis combined with subcritical water pretreatment were used to significantly enhance the decomposition of lignocellulosic complex into simple sugars with several advantages over conventional processes. Coconut husk was pretreated by SCW in a batch reactor at 60, 80 and 100 bar, temperature of 150, 170 and 190 °C, and reaction time of 20, 40 and 60 minutes. The SCW pretreatment produced two products, sugar liquid and solid (SCW-treated substrate). The solid product was continued by enzymatic hydrolysis using mixture of pure cellulase and xylanase enzymes. The substrate was analyzed by TGA (thermogravimetric analysis) to study the thermal stability and SEM (scanning electron microscopy) to study the surface morphology of the substrate. XRD (X-Ray Diffraction) was used to study the crystal structure of the substrate while FTIR (fourier transform infrared spectroscopy) was used to study the changes in chemical composition. The liquid product was analyzed by DNS (dinitrosalicylic acid) method to obtain the concentration of sugar.

Maximum yield of reducing sugar by SCW pretreatment was 0.146 g/g raw material obtained at 150 °C and 80 bar for 40 minutes of reaction time. Whereas, maximum yield of reducing sugar by enzymatic hydrolysis was 9.91 g/g raw material obtained at 150 °C and 100 bar for 40 minutes. The highest total mass of reducing sugar obtained at 80 bar, 150 °C and 40 minutes of 1,4 g.

Key word: coconut husk; lignin; lignocellulose; subcritical water; sugar

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT yang selalu melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga kami dapat menyelesaikan laporan skripsi yang berjudul :

“PRODUKSI GULA REDUKSI DARI SABUT KELAPA MENGGUNAKAN KOMBINASI TEKNOLOGI AIR SUBKRITIS (DENGAN GAS PENEKAN N₂) DAN HIDROLISIS ENZIMATIK”

Laporan skripsi ini dibuat untuk memenuhi salah satu syarat kelulusan pada jenjang pendidikan S1 di Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya. Penulis menyadari dalam penyusunan laporan skripsi ini tidak akan selesai tanpa bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini kami ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Juwari, S.T., M.Eng., Ph.D, selaku Ketua Departemen Teknik Kimia FTI-ITS Surabaya.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng, selaku Dosen Pembimbing dan Kepala Laboratorium Teknologi Biokimia, atas bimbingan dan saran yang telah diberikan.
3. Ibu Dr. Lailatul Qadariyah, S.T., M.T, selaku Koordinator Tugas Akhir Departemen Teknik Kimia FTI-ITS Surabaya.
4. Bapak dan Ibu Dosen pengajar serta seluruh karyawan Departemen Teknik Kimia.
5. Bapak M. Maktum Muharja Al-Fajri selaku *mentor* kami dalam penelitian ini, atas bantuan serta bimbingan yang telah diberikan.
6. Teman-teman Lab Teknologi Biokimia dan Teknik Kimia Angkatan 2013 untuk dukungan dan bantuan dalam penyusunan laporan ini.

7. Orang tua dan saudara-saudara kami atas doa, bimbingan, perhatian, dan kasih sayang yang selalu tercurah selama ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak sepenuhnya sempurna sehingga penulis membutuhkan kritik dan saran yang konstruktif demi penyempurnaannya. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi seluruh pihak yang membacanya.

Surabaya, 23 Juli 2017

,

Penyusun

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xii
I. PENDAHULUAN	
I.1 Latar belakang	I-1
I.2 Perumusan masalah	I-4
I.3 Tujuan	I-5
I.4 Manfaat Penelitian	I-5
I.5 Batasan Masalah	I-5
II. TINJAUAN PUSTAKA	
II.1 Lignoselulosa	II-1
II.2 Sabut Kelapa (<i>Coconut Husk</i>)	II-4
II.3 Proses <i>Pretreatment</i> Lignoselulosa	II-4
II.4 Proses <i>Pretreatment</i> dengan Teknologi Air Subkritis	II-6
II.5 Hidrolisis Enzimatis	II-9
II.6 Penelitian Terdahulu	II-12
III. METODE PENELITIAN	
III.1 Variabel Penelitian	III-1
III.2 Bahan dan Alat	III-1
III.3 Prosedur Eksperimen <i>Pretreatment</i> Air Subkritis	III-2
III.4 Prosedur Pengukuran <i>Pretreatment</i> Air Subkritis	III-3
III.5 Prosedur Eksperimen Hidrolisis Sabut Kelapa	III-6
III.6 Prosedur Pengukuran Hidrolisis Enzimatis	III-6
III.7 Diagram Alir Percobaan	III-11
III.8 Waktu dan Tempat Penelitian	III-13

IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
IV.1 Pretreatment Subkritis	IV-1
IV.2 Hidrolisis Enzimatik Sabut Kelapa	IV-10
IV.3 Uji Signifikansi	IV-21
IV.4 Penentuan Variabel Optimum	IV-23
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
V.1 Kesimpulan	V-1
V.2 Saran	V-2
DAFTAR PUSTAKA	xii
APPENDIKS	A-1

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1	Struktur Selulosa	II-2
Gambar II.2	Struktur Molekul Hemiselulosa	II-2
Gambar II.3	Struktur Molekul Lignin	II-3
Gambar II.4	Skema Proses <i>Pretreatment</i>	II-5
Gambar II.5	Diagram Fasa Air pada Bidang P-T	II-7
Gambar II.6	Hubungan Kerapatan, Konstanta Dielektrik dan Ionisasi Air Terhadap Temperatur	II-8
Gambar II.7	Kebutuhan Energi pada Reaksi Kimia	II-9
Gambar II.8	Model Kerja Enzim	II-10
Gambar III.1	Desain Peralatan Air Subkritis yang Digunakan dalam Studi Ini	III-2
Gambar IV.1	<i>Yield</i> Gula Reduksi Hasil <i>Pretreatment</i> Air Subkritis	IV-2
Gambar IV.2	Alur Reaksi Selulosa setelah <i>Pretreatment</i> Air Subkritis	IV-4
Gambar IV.3	Analisa SEM pada (a) padatan yang belum dilakukan <i>pretreatment</i> dan (b) padatan yang telah dilakukan <i>pretreatment</i> air subkritis pada 80 bar, 150 °C dan 40 menit	IV-6
Gambar IV.4	Spektrum FTIR padatan yang tidak diberi <i>pretreatment</i> dan padatan yang diberi <i>pretreatment</i> air subkritis pada kondisi operasi 80 bar, 150 °C dan 40 menit	IV-7
Gambar IV.5	Analisa XRD pada padatan yang belum diberi <i>pretreatment</i> dan yang telah diberi <i>pretreatment</i> air subkritis pada kondisi optimum 80 bar, 150 °C dan 40 menit	IV-8
Gambar IV.6	Kurva thermo-gravimetri dari padatan yang belum diberi <i>pretreatment</i> dan	IV-9

	padatan yang telah diberi <i>pretreatment</i> air subkritis pada kondisi optimum 80 bar, 150 °C dan 40 menit	
Gambar IV.7	Grafik konsentrasi gula reduksi hasil Hidrolisis enzimatik dari padatan sabut kelapa yang telah ditreatment selama 20 menit (a-c)	IV-12
Gambar IV.8	Grafik konsentrasi gula reduksi hasil Hidrolisis enzimatik dari padatan sabut kelapa yang telah ditreatment selama 40 menit (d-f)	IV-14
Gambar IV.9	Grafik konsentrasi gula reduksi hasil Hidrolisis enzimatik dari padatan sabut kelapa yang telah ditreatment selama 60 menit (g-i)	IV-16
Gambar IV.10	Hubungan residual dengan <i>fitted value</i> untuk konsentrasi gula reduksi (keluaran uji identik dari minitab 16)	IV-25
Gambar IV.11	<i>Autocorrelation Function</i> untuk Konsentrasi Gula Reduksi	IV-26
Gambar IV.12	Uji kenormalan residual model <i>response surface</i>	IV-27
Gambar IV.13	Plot <i>Contour</i> Konsentrasi vs Waktu, Suhu pada Tekanan Tetap	IV-28
Gambar IV.14	Plot <i>surface respon</i>	IV-29

DAFTAR TABEL

Tabel II.1	Properti Air Subkritis	II-6
Tabel IV.1	Perbandingan Massa Gula Reduksi Hasil Pretreatment Air Subkritis, Hidrolisis Enzimatik dan Total Gula Reduksi Sabut Kelapa pada Berbagai Variabel	IV-19
Tabel IV.2	Analisa Variansi Pengaruh Parameter Air subkritis terhadap konsentrasi gula di hidrolisat dengan minitab <i>Two ways</i> ANOVA	IV-21
Tabel IV.3	Analisa Variansi Pengaruh Parameter Air subkritis terhadap konsentrasi gula hasil hidrolisis enzimatik dengan minitab <i>Two ways</i> ANOVA	IV-21
Tabel IV.4	Analisa Variansi Pengaruh Parameter Air subkritis terhadap total gula reduksi dengan minitab <i>Two ways</i> ANOVA	IV-22
Tabel IV.5	Hasil ANOVA Rancangan Desain Tiga Faktor metode <i>box behnken</i>	IV-24

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Bahan bakar fosil merupakan sumber energi yang tidak dapat diperbaharui, namun masih menjadi sumber bahan bakar utama di dunia hingga saat ini. Dari data yang dipublikasikan oleh *British Petroleum* pada tahun 2015, cadangan minyak bumi, batubara, dan gas masing-masing adalah 50,7 tahun, 114 tahun, dan 53 tahun. Hal ini akan menjadi masalah yang serius jika penduduk terus bergantung pada bahan bakar fosil. Salah satu energi terbarukan yang berpotensi menggantikan bahan bakar fosil adalah hidrogen (Prado, 2015). Hidrogen memiliki keunggulan antara lain tidak menghasilkan polusi karbon pada pembakarannya dan memiliki keefektifan pembakaran yang tinggi. Namun, hidrogen tidak dapat diambil langsung di alam melainkan harus diproduksi dengan menggunakan sumber energi lain (Wen, dkk., 2009).

Salah satu sumber energi yang dapat dimanfaatkan untuk memproduksi hidrogen adalah biomassa. Indonesia merupakan negara tropis penghasil beragam jenis biomassa yang melimpah, satu diantaranya adalah sabut kelapa. Sejauh ini, sabut kelapa hanya dimanfaatkan sebagai media tanam dan sisanya menjadi limbah (Sangian, dkk., 2015). Padahal, sabut kelapa memiliki kandungan lignoselulosa yang tersusun dari tiga polimer yaitu selulosa (26,72%), hemiselulosa (17,73%) dan lignin (41,19%) yang dapat dimanfaatkan menjadi sumber energi (Sangian, dkk., 2015).

Metode hidrolisis adalah salah satu metode untuk mendegradasi lignoselulosa. Metode tersebut dapat mengkonversi sabut kelapa untuk menghasilkan gula reduksi. Metode hidrolisis umum digunakan karena metode tersebut paling mudah, murah dan beresiko kecil untuk diterapkan. Namun, meskipun hidrolisis

dapat dilakukan, molekul lignoselulosa memiliki struktur kompleks lignin dimana seluruhnya berbentuk linear dan mempunyai kecenderungan kuat membentuk ikatan hidrogen antar molekul. Sebagai akibatnya, selulosa mempunyai kekuatan tarik yang tinggi terhadap lignin dan tidak larut dalam kebanyakan pelarut (Sjöström, 1998; Hon dkk., 2001). Karena selulosa sulit untuk di hidrolisis menjadi gula sederhana secara enzimatik, maka dibutuhkan metode *pretreatment* untuk memecah lignin (Toor dkk., 2011).

Terdapat beberapa metode *pretreatment* yang dapat dilakukan untuk meningkatkan kerja enzim. Metode *pretreatment* secara kimia merupakan teknik konvensional, biasanya menggunakan pelarut asam atau basa. Kelebihan dari metode ini adalah *yield* yang dihasilkan tinggi (lebih besar 9-13%) dari metode secara fisika (air subkritis), tetapi menghasilkan limbah yang berdampak buruk pada lingkungan (King, dkk., 2012). Metode lainnya yaitu secara biologi menggunakan jamur atau bakteri. Kelebihannya adalah bebas limbah, namun *yield* yang dihasilkan rendah (39,4%) dan memakan waktu yang lama (30 hari) (Saha, dkk., 2015). Metode *pretreatment* ketiga adalah secara fisika, contohnya dengan metode air subkritis. Keunggulan metode ini adalah menggunakan teknologi ramah lingkungan, air bertindak sebagai katalis dan reaktan, serta mudah dalam hal penanganan dan pengoperasian karena suhu dan tekanan relatif rendah (Prado, 2015). Namun, kelemahannya adalah biaya produksi yang sangat tinggi serta teknologi yang sulit untuk diaplikasikan ke dalam skala industri karena faktor keamanan (Sangian, dkk., 2015). Sehingga, perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kondisi operasi terbaik guna menekan biaya operasi.

Beberapa penelitian terkait air subkritis telah dilakukan. Salah satu faktor untuk mengoptimalkan *pretreatment* air subkritis adalah penggunaan gas penekan. Satu diantara gas penekan yang menarik perhatian untuk diteliti lebih jauh adalah gas Nitrogen (N_2). Selain harganya yang murah, gas N_2 memiliki

kelebihan karena sifatnya yang inert. Penelitian menggunakan gas N₂ sebagai gas penekan telah dilakukan sebelumnya oleh Bergas, dkk., (2015). Penelitian dilakukan pada reaktor *batch* dengan kondisi suhu 110-170 °C serta tekanan 20-40 bar selama 1 jam. *Yield* tertinggi didapatkan pada kondisi *pretreatment* air subkritis pada kondisi operasi tertinggi yakni tekanan 40 bar dan suhu 170°C dengan *yield* 23,76 gram gula reduksi per 100 gram sabut kelapa. Pada penelitian tersebut, telah diketahui bahwa kecenderungan kondisi operasi tekanan dan suhu berbanding lurus dengan *yield* gula reduksi. Meskipun telah diketahui kecenderungannya namun belum didapatkan kondisi operasi yang optimum. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai seberapa signifikan peningkatan suhu dan tekanan terhadap peningkatan *yield* gula reduksi guna mendapatkan hasil yang optimum.

Faktor lainnya yang dapat mempengaruhi *yield* gula reduksi adalah waktu reaksi. Zhang dan Wu (2013) telah melakukan penelitian untuk memproduksi gula reduksi dari ampas tebu menggunakan *pretreatment* dengan CO₂ subkritis dan hidrolisis enzimatis. Dari penelitian tersebut, pada tekanan 5 Mpa, suhu 160°C dan variabel waktu 20-100 menit, diketahui *yield xylose* setelah *pretreatment* dengan CO₂ subkritis meningkat dari 9,9 g/100 g ampas tebu pada waktu 20 menit hingga 15,78 g/100 g ampas tebu pada 80 menit, kemudian mengalami penurunan menjadi 14,47 g/100 g ampas tebu pada 100 menit. Hubungan tersebut dapat dijelaskan sebagai peningkatan kelarutan biomassa seiring dengan pertambahan waktu reaksi. Awalnya, *yield* gula reduksi meningkat hingga mencapai nilai maksimum tertentu kemudian *yield*-nya menurun seiring dengan bertambahnya waktu. Meski *yield* gula reduksi meningkat dengan pertambahan waktu reaksi, produk degradasi gula (*inhibitor*) juga meningkat dimana jumlah 5-Hydroxymethyl furfural (HMF), furfural, dan asam asetat pada waktu reaksi 20 menit hingga 100 menit meningkat secara berturut turut sebesar 0,02-0,07 g/L, 0,31-2,07 g/L, dan 0,8-2,63 g/L. Ketika derajat likuifikasi yang tinggi

telah tercapai, sedangkan proses tetap dilanjutkan dengan waktu yang lebih lama maka akan menyebabkan gula terdegradasi. Oleh karena itu, perlu adanya pengaturan waktu reaksi untuk mendapatkan waktu optimum guna mendapatkan *yield* gula reduksi yang maksimal (Prado, dkk., 2016).

Dari latar belakang tersebut, maka pada penelitian ini akan dilakukan *pretreatment* air subkritis dengan gas penekan N₂ untuk mengkonversi sabut kelapa menjadi gula reduksi. Penelitian ini difokuskan untuk mendapatkan kondisi operasi optimum dari *pretreatment* air subkritis guna mendapatkan *yield* maksimum gula reduksi.

I.2 Perumusan Masalah

Dari uraian latar belakang diatas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Bahan bakar fosil, batubara dan gas alam masih menjadi sumber bahan bakar utama di dunia. Padahal, bahan bakar fosil merupakan sumber energi yang tidak dapat diperbaharui. Salah satu energi terbarukan yang berpotensi menggantikan bahan bakar fosil adalah hidrogen.
2. Bahan lignoselulosa yang terdapat pada limbah sabut kelapa dapat dimanfaatkan menjadi sumber energi Hidrogen. Namun sayangnya, lignoselulosa pada sabut kelapa sangat sulit didegradasi dengan teknik enzimatik karena terlindungi oleh lignin dan ikatan hidrogen yang kuat antar molekul pada gugus OH.
3. Teknologi Air Subkritis dapat menjadi solusi pemecahan struktur kompleks lignoselulosa sabut kelapa. Namun pada penelitian metode Air Subkritis dengan gas penekan N₂ sebelumnya, masih belum didapatkan kondisi operasi yang optimum. Padahal, kecenderungan kondisi operasi tekanan dan suhu berbanding lurus dengan *yield* gula reduksi. Sehingga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui signifikansi kondisi operasi teknologi

air subkritis dengan gas penekan N₂ terhadap peningkatan *yield* gula reduksi guna mendapatkan hasil yang optimum.

I.3 Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan gula reduksi (yang siap difermentasi) dari sabut kelapa melalui proses pretreatment air subkritis dilanjutkan dengan hidrolisis enzimatik.
2. Mendapatkan kondisi suhu, tekanan dan waktu optimum pada proses air subkritis dengan gas penekan N₂.

I.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Sebagai salah satu cara untuk membuat bahan baku sumber energi terbarukan yaitu *biofuel* yang ramah lingkungan.
2. Mengoptimalkan kegunaan dari sabut kelapa yang selama ini hanya dianggap sebagai limbah pertanian.

I.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bahan baku yang digunakan berupa sabut kelapa yang diperoleh dari Sulawesi Utara.
2. *Pretreatment* air subkritis dilakukan dengan menggunakan reaktor *batch*.
3. Hidrolisis enzimatik yang dilakukan untuk mengkonversi substrat menjadi gula menggunakan enzim selulase dan xilanase murni.

BAB II

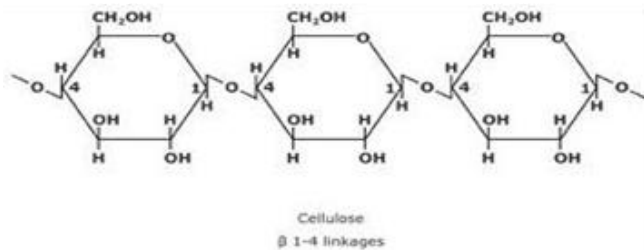
TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Lignoselulosa

Lignoselulosa sebagai salah satu sumber polisakarida yang melimpah, melalui proses hidrolisis dan fermentasi dapat dikonversi menjadi etanol sebagai suatu alternatif sumber energi hijau. Indonesia sebagai negara tropis memiliki sumber-sumber lignoselulosa sangat melimpah. Oleh karena itu, pengembangan proses pembuatan etanol dari lignoselulosa tentu memberi manfaat untuk kemajuan masyarakat. Senyawa lignoselulosa terdiri atas tiga komponen utama, yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang merupakan bahan utama penyusun dinding sel tumbuhan. Ketiga komponen utama tersebut membentuk suatu ikatan kimia yang kompleks menjadi bahan dasar dinding sel tumbuhan. (Setyaningsih dan Dody, 2013)

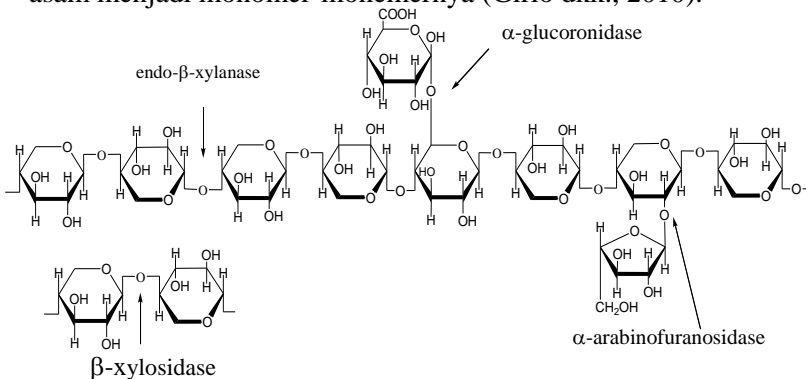
Bahan lignoselulosa merupakan komponen organik yang berlimpah di alam, yang tersusun dari tiga polimer yaitu selulosa (35-50%), hemiselulosa (20-35%), dan lignin (10-25%). Komponen ini merupakan sumber utama untuk menghasilkan produk bernilai tinggi seperti gula dari hasil fermentasi, bahan kimia, bahan bakar cair, sumber karbon dan energi (Saha dkk., 2005).

Selulosa ($C_6H_{10}O_5$)_n, merupakan homopolimer yang terdiri atas unit-unit D-glukosa yang terhubung satu sama lain melalui ikatan glikosida $\beta(1\rightarrow4)$, yang ditunjukkan pada Gambar II.1. Struktur selulosa secara umum berbentuk teratur (kristalin), tetapi ada juga bagian-bagian yang berbentuk tidak teratur (*amorf*). Tingkat kekristalan selulosa mempengaruhi kemampuan hidrolisis baik melalui teknik konvensional maupun secara enzimatik (Toor dkk., 2011).



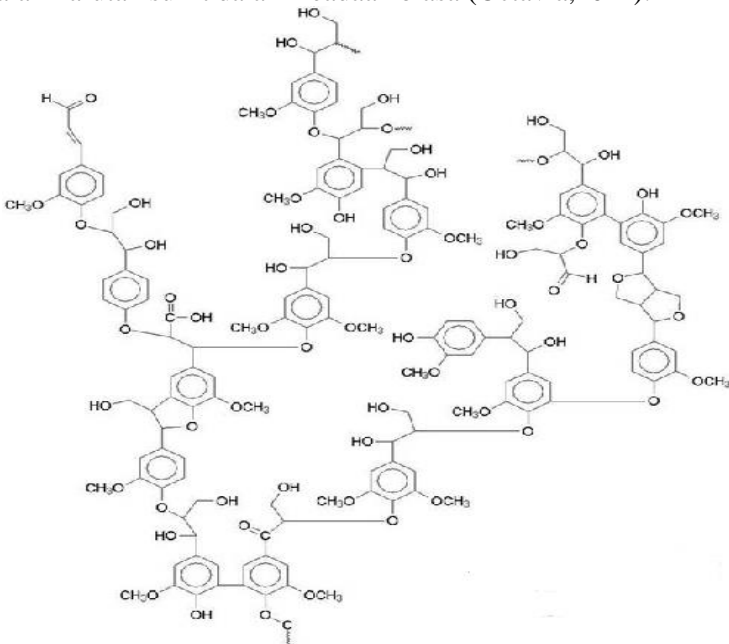
Gambar II.1 Struktur Selulosa (Fengel & Wegener, 1989)

Hemiselulosa atau yang disebut juga poliosa, yang ditunjukkan pada Gambar II.2, merupakan polimer lain yang terkandung dalam bahan lignoselulosa. Hemiselulosa terdiri atas berbagai macam gula monomer, yaitu D-xilosa, D-manosa, D-galaktosa, dan L-arabinosa termasuk juga xilan, mannan, galaktan, dan arabian sebagai heteropolimer utama. Xilan merupakan penyusun utama hemiselulosa sebagian besar memiliki monomer D-xilosa. Xilan tersusun atas ikatan-ikatan rantai bercabang dari $\beta(1 \rightarrow 4)$ dan rantai tidak bercabang D-xylopiranosa. Hemiselulosa memiliki rantai polimer yang pendek dan tidak berbentuk, sehingga sebagian besar dapat larut dalam air. Oleh karena itu, hemiselulosa relatif mudah dihidrolisis oleh asam menjadi monomer-monemernya (Girio dkk., 2010).



Gambar II.2 Struktur Molekul Hemiselulosa

Struktur molekul lignin, yang ditunjukkan pada Gambar II.3, sangat berbeda bila dibandingkan polisakarida karena terdiri atas sistem aromatik yang tersusun atas unit-unit fenilpropana yaitu koniferil, sinapil, dan p-kumaril (Howard dkk, 2003). Lignin berfungsi untuk melindungi hemiselulosa dan selulosa dari aksi kimiawi, serta dapat membentuk ikatan kovalen dengan beberapa komponen hemiselulosa, oleh karena itu lignin sangat sulit untuk didegradasi oleh mikroba ataupun bahan kimia lainnya, dibandingkan dengan selulosa atau hemiselulosa. Dengan menggunakan metode hidrolisis lignin pada kondisi suhu yang rendah ($\pm 100^{\circ}\text{C}$) dapat terurai menjadi *methoxy phenols*. Selain itu lignin dapat dioksidasi oleh larutan alkali dan mudah larut dalam larutan sulfit dalam keadaan biasa (Octavia, 2011).



Gambar II.3 Struktur Molekul Lignin (Sjöström 1993; Fengel & Wegener 1989)

II.2 Sabut Kelapa (*Coconut Husk*)

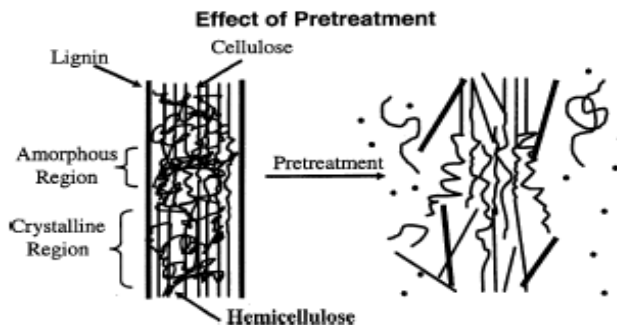
Indonesia merupakan negara yang memiliki lahan tanaman kelapa terbesar di dunia dengan luas areal 3,88 juta hektar (97% merupakan perkebunan rakyat) dan memproduksi kelapa 3,2 juta ton kopra (Dirjen industri agro dan kimia, 2009). Buah kelapa merupakan bagian paling penting dari tanaman kelapa yang memiliki nilai ekonomis dan gizi yang tinggi. Buah kelapa tua terdiri dari empat komponen utama yaitu 35% sabut, 12% tempurung, 28% daging buah dan 25% air kelapa (Astawan, 2007). Pada umumnya hanya daging dan air kelapa yang banyak dimanfaatkan sebagai berbagai macam bahan kebutuhan rumah tangga seperti bumbu dapur, santan, kopra, minyak kelapa, dan air kelapa untuk minuman ringan, sirup dan obat-obatan, sedangkan sabut kelapa sebagai komponen terbanyak dari buah kelapa kurang dimanfaatkan dan hanya menjadi limbah. Oleh karena itu, studi pemanfaatan sabut kelapa perlu dilakukan agar lebih memiliki nilai guna bagi kehidupan masyarakat sehingga dapat mereduksi limbah sabut kelapa (Palungkun, 2004).

Salah satu pemanfaatan sabut kelapa sebagai bahan baku produksi glukosa melalui proses hidrolisis, karena mengandung serat kasar yang mengandung senyawa lignoselulosa (senyawa kompleks lignin, selulosa dan hemiselulosa). Sehingga dalam penelitian ini akan difokuskan pada bagian sabut kelapa. Sabut kelapa merupakan salah satu biomassa yang mudah didapatkan dan merupakan hasil samping pertanian. Kandungan dari sabut kelapa terdiri dari 26,72% selulosa (S), 17,73% hemiselulosa (H) dan 41,19% lignin (Sangian, dkk., 2015). Kandungan selulosa yang cukup tinggi dari sabut kelapa berpotensi untuk memproduksi gula reduksi (glukosa) melalui proses hidrolisis.

II.3 Proses *Pretreatment* Lignoselulosa

Sebelum bahan selulosa dan hemiselulosa digunakan sebagai bahan baku pembuatan gula, kedua bahan tersebut harus diekstrak dari bahan lignoselulosa. *Pretreatment* bahan mentah

merupakan tantangan utama untuk memproduksi hidrogen dari bahan lignoselulosa. *Pretreatment* ini juga disebut delignifikasi bertujuan untuk meningkatkan kemampuan area permukaan (porositas) selulosa sehingga dapat meningkatkan konversi selulosa menjadi glukosa (gula fermentasi). Proses delignifikasi bahan lignoselulosa dapat menggunakan metode kimia (asam atau basa), biologi (dengan bantuan jamur) dan fisik. Ada hubungan linear antara delignifikasi dan hasil dari proses hidrolisis lignoselulosa menjadi gula (Koullas dkk., 1993). Metode yang banyak digunakan untuk memecah rantai selulosa menjadi glukosa adalah hidrolisis dengan asam dan enzim. Skema dari proses *pretreatment* secara umum dapat ditunjukkan dari Gambar II.4. Masing- masing metode mempunyai kelebihan dan kekurangan, tetapi yang harus diperhatikan adalah pemakaian energi yang rendah dan rendahnya polusi yang dihasilkan dari proses tersebut. Hidrolisis enzim dipercaya mampu memenuhi persyaratan tersebut, karena proses ini bekerja pada kondisi yang menengah (*mild condition*) sehingga tidak memerlukan energi yang besar, menghindari penggunaan bahan kimia yang beracun dan korosif (Sharma dkk., 2002).



Gambar II.4 Skema Proses *Pretreatment* (Hsu, dkk., 1980)

Faktor-faktor yang mempengaruhi kemampuan enzim menghidrolisis bahan lignoselulosa diantaranya kandungan lignin dan hemiselulosa dan tingkat kekristalan selulosa. Oleh karena

itu, *pretreatment* diperlukan untuk menghilangkan lignin dan hemiselulosa, menurunkan tingkat kekristalan selulosa sehingga meningkatkan fraksi amorph selulosa, serta meningkatkan porositas material (Sánchez dan Cardona, 2008; Zhu dkk., 2008; Hsu dkk., 2010). Selain itu, *pretreatment* harus bisa meningkatkan kemampuan pembentukan gula selama proses hidrolisis, menghalangi terbentuknya inhibitor pada hidrolisis berikutnya dan selama proses fermentasi, menghalangi kehilangan karbohidrat dan biaya yang efektif (Sun dan Cheng, 2005; Kumar dan Wyman, 2009). Salah satu metode lainnya, yang telah menarik banyak perhatian sebagai teknik *pretreatment* yaitu metode air subkritis (fisik) yang diyakini dapat memberikan hasil hidrolisis yang optimal.

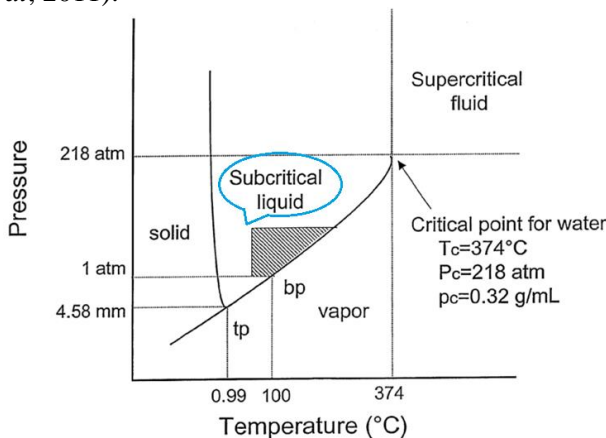
II.4 Proses *Pretreatment* dengan Teknologi Air Subkritis

Pada kondisi mendekati titik kritis, air memiliki beberapa sifat yang sangat menarik. Diantaranya viskositas yang rendah dan solubilitas tinggi terhadap bahan-bahan organik, sehingga menjadikan air subkritis sebagai media yang sangat baik untuk reaksi yang cepat, homogen, dan efisien. Karenanya, selama dekade terakhir, air subkritis banyak digunakan sebagai pelarut dan media reaksi untuk konversi biomassa. Berikut adalah beberapa sifat air subkritis.

Tabel II.1 Properti Air Subkritis (Toor *et all*, 2011)

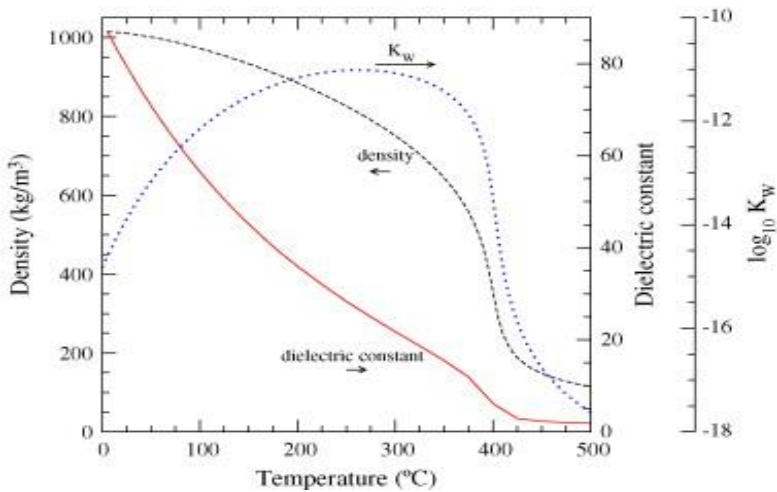
	Normal water	Subcritical water	
Temp. (°C)	25	250	350
Pressure (MPa)	0.1	5	25
Density, ρ (g cm ⁻³)	1	0.80	0.6
Dielectric constant, ϵ (F m ⁻¹)	78.5	27.1	14.07
Ionic product, pK _w	14.0	11.2	12
Heat capacity C _p (kJ kg ⁻¹ K ⁻¹)	4.22	4.86	10.1
Dynamic viscosity, η (mPa s)	0.89	0.11	0.064

Terlihat bahwa air subkritis menunjukkan reaksi yang berbeda dari air pada suhu ruangan. Konstanta dielektrik air semakin menurun pada kondisi subkritis sehingga air mampu untuk melarutkan senyawa organik hidrofobik seperti asam lemak bebas (Toor *et al*, 2011).



Gambar II.5 Diagram Fasa Air pada Bidang P-T

Sifat makroskopik dari air, seperti solubilitas, derajat ikatan hidrogen, polaritas, konstanta dielektrik, difusivitas molekuler, dan viskositas dapat direkayasa dengan perubahan tekanan dan temperatur. Air adalah molekul polar membentuk jaringan ikatan-H antar molekul dan mempunyai solubilitas buruk pada sebagian besar bahan organik. Ketika air dipanaskan, ikatan-H mulai melemah sehingga terjadi disosiasi air menjadi $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_3\text{O}^+ + \text{OH}^-$. Pada subkritis air, konstanta ionisasi (K_w) air meningkat dengan temperatur pada orde 3 dari orde air dalam keadaan normal seperti yang ditunjukkan pada **Gambar II.6**.



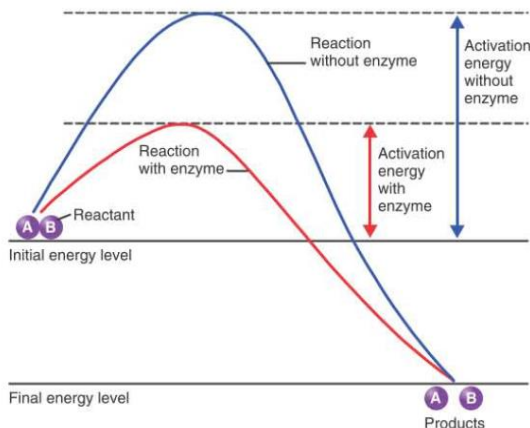
Gambar II.6 Hubungan Kerapatan, Konstanta Dielektrik dan Ionisasi Air Terhadap Temperatur (Peterson dkk., 2008)

Level ionik yang tinggi dari H^+ dan OH^- pada subkritis air berarti bahwa banyak reaksi asam basa yang terjadi dan air bertindak sebagai katalis. Ion H^+ bertindak sebagai pendegradasi lignin dan OH^- sebagai pendegradasi hemiselulosa pada proses hidrolisis lignoselulosa menjadi gula. Kerapatan air pada subkritis adalah pada jangkauan antara kerapatan normal dan kerapatan superkritis, maka dapat dilakukan proses gasifikasi bahan-bahan biomassa, seperti selulosa dan bahan berbasis organik karena ion H dan OH bereaksi secara radikal menghasilkan gas. Bahan yang paling banyak digunakan dalam teknik subkritis adalah air dan karbon dioksida. Sifat kritis dari air adalah, temperatur kritis 647,3 K, tekanan kritis 22,12 Mpa, dan kerapatan 0,348 g/cc (Toor dkk., 2011). Untuk membuat air mencapai kondisi subkritisnya, diperlukan gas penekan sehingga air dapat berada pada kondisi mendekati titik kritisnya. Ada beberapa gas penekan yang digunakan hingga saat ini seperti karbon dioksida (CO_2) dan

nitrogen (N_2). Beberapa penelitian menggunakan salah satu dari kedua gas ini untuk membuat kondisi subkritis air.

II.5 Hidrolisis Enzimatik

Dalam sel hidup, enzim berperan sebagai katalisator biologis. Sebagai katalis, enzim bekerja secara spesifik. Masing-masing berperan pada substansi tertentu yang disebut substrat enzim dan hanya berfungsi sebagai katalis untuk satu reaksi. Contohnya, sukrosa adalah substrat dari enzim sukrase, yang berfungsi mempercepat hidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Sebagai katalis, enzim secara khusus dapat mempercepat reaksi kimia. Molekul enzim tiga dimensi memiliki tempat aktif (*active site*), suatu tempat yang akan melakukan interaksi dengan senyawa kimia yang spesifik. Enzim mengorientasi substrat ke suatu posisi yang dapat meningkatkan probabilitas suatu reaksi. Kompleks enzim-substrat yang terbentuk dari ikatan sementara antara enzim dan reaktan dapat menjadikan tumbukan antar partikel menjadi lebih efektif serta dapat menurunkan energi aktivasi dari reaksi.

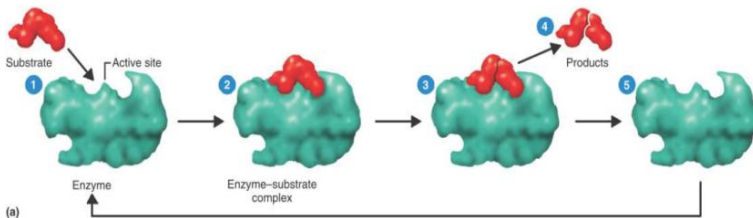


Gambar II.7 Kebutuhan Energi pada Reaksi Kimia

Enzim mempercepat reaksi dengan menaikkan jumlah molekul AB hingga mencapai energi aktivasi yang cukup untuk bereaksi. Kemampuan enzim untuk mempercepat reaksi tanpa perlu menaikkan suhu merupakan hal yang krusial bagi makhluk hidup karena kenaikan suhu yang signifikan dapat menghancurkan sel-sel protein (Tortora, 2007).

Urutan mekanisme kerja enzim adalah sebagai berikut:

1. Permukaan substrat berkontak dengan daerah spesifik pada permukaan molekul enzim yang disebut dengan tempat aktif.
2. Terjadi pembentukan senyawa antara yang bersifat sementara, disebut kompleks enzim-substrat.
3. Molekul substrat ditransformasi dengan penyusunan kembali atom-atom, pemutusan molekul substrat, atau kombinasi dengan molekul substrat lainnya.
4. Molekul substrat yang telah ditransformasi dilepaskan dari molekul enzim karena sudah tidak muat lagi di dalam tempat aktif enzim.
5. Enzim yang tidak mengalami perubahan menjadi bebas untuk bereaksi dengan molekul substrat lainnya.



Gambar II.8 Mekanisme Kerja Enzim(Tortora dkk., 2007)

II.5.1 Enzim Selulase

Selulase adalah enzim kompleks yang memotong secara bertahap rantai selulosa menjadi glukosa (Gerhartz, 1990). Tiga komponen yang telah teridentifikasi dalam enzim selulase adalah endoglukanase yang memecah ikatan β -1,4 pada rantai selulosa secara acak, eksoglukanase yang memecahkan satuan selobiosa dari ujung rantai dan β -glukosidase menjadi glukosa (Dahot dan

Noomrio,1996). Enzim selulase dapat mengubah selulosa tak tersubstitusi menjadi selobiosa yang kemudian dihidrolisis lebih lanjut dengan β -glukosidase (Alexander dkk, 1992). Pemutusan ikatan ini akan menghasilkan oligosakarida turunan selulosa, yang akhirnya diubah menjadi monomer glukosa (Chaplin, 1994). Hidrolisis selulosa menjadi glukosa secara konsisten melewati dua tahap penting dalam sistem enzimatik, yaitu pemecahan ikatan glukosidik pada selulosa menjadi selobiosa oleh β -1,4-glukanase dan pemecahan ikatan β -1,4-glukosidik pada selobiosa menjadi glukosa oleh β -glukosidase (Fox, 1991). Selulase dapat diproduksi oleh jamur, bakteri, dan tumbuhan. Salah satu mikroorganisme utama yang dapat memproduksi selulase adalah jamur. Jamur berfilamen seperti *Trichoderma* dan *Aspergillus* adalah penghasil enzim selulase dan *crude* enzim secara komersial (Ul-Haq dkk., 2005).

II.5.2 Enzim Xilanase

Xilanase merupakan kelompok enzim yang memiliki kemampuan untuk menghidrolisis hemiselulosa, dalam hal ini yaitu xilan atau polimer dari xilosa dan xilo-oligosakarida. Xilanase dapat diklasifikasikan berdasarkan substrat yang dihidrolisis yaitu β -xilosidase, eksoxilanase, dan endoxilanase (Muljana, dkk., 2013). β -xilosidase mampu menghidrolisis xilo-oligosakarida rantai pendek menjadi xilosa. Aktivitas enzim akan menurun dengan meningkatnya rantai xilo-oligosakarida. Xilosa juga merupakan inhibitor bagi enzim β -xilosidase. Eksoxilanase mampu memutus rantai polimer xilosa (xilan) pada ujung reduksi, sehingga menghasilkan xilosa dan sejumlah oligosakarida rantai pendek. Sedangkan, endoxilanase mampu memutus ikatan β ,1-4 pada bagian dalam rantai xilan secara teratur. Ikatan yang putus ditentukan berdasarkan panjang rantai substrat, derajat percabangan, ada atau tidaknya gugus substitusi dan pola pemutusan dari enzim hidrolase tersebut (Richana, 2002). Sejumlah mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim xilanase antara lain: *A. niger*, *Bacillus*, *Cryptococcus*,

Penicillium, Aureo-basidium, Fusarium, Trichoderma, Rhizomucor, Humicola.

II.6 Penelitian Terdahulu

Berikut ini merupakan hasil penelitian terdahulu yang menggunakan metode *pretreatment* dengan air subkritis.

No.	Jurnal/Thesis/Skripsi	Hasil Penelitian
1.	<p>Sangian, dkk., 2015 Study of the Preparation of Sugar from High-Lignin Lignocellulose Applying Subcritical Water and Enzymatic Hydrolysis: Synthesis and Consumable Cost Evaluation</p>	<p>Pada penelitian ini digunakan gas penekan CO₂ 99% pada suhu 110-170°C selama 1 jam (kondisi operasi <i>batch</i>) dengan tekanan 20-40 bar. Hasil total gula tertinggi setelah hidrolisis dengan air subkritis yaitu pada suhu 160°C dan tekanan 40 bar sebanyak 0,09 gr gula / gr debu sabut kelapa. Komposisi selulosa tidak berubah secara signifikan seiringan dengan peningkatan suhu dan tekanan pada kondisi air subkritis. Peningkatan suhu pada tekanan konstan menyebabkan penurunan kandungan hemiselulosa. Selain itu, kandungan hemiselulosa juga menurun seiringan dengan kenaikan tekanan. Data lainnya menunjukkan bahwa kenaikan tekanan dan suhu mengakibatkan penurunan lignin. Hasil gula hidrolisis enzimatik dengan <i>pretreatment</i> air subkritis tertinggi (40 bar, 160 °C) sebanyak 4,32 g·L⁻¹.</p>

		Disimpulkan bahwa jumlah gula terhidrolisis enzimatik dipengaruhi secara signifikan oleh tekanan, suhu, serta waktu hidrolisis.
2.	Dian Ranggina, 2015 Produksi Hidrogen dari Sabut Kelapa Melalui Hidrolisis dengan Metode Air Subkritis	Pada penelitian ini digunakan air subkritis dengan gas penekan CO ₂ . Konsentrasi gula reduksi tertinggi sebesar 4,78 g/L dan <i>yield</i> 0,1 g gula reduksi/g bahan baku pada 80 bar dan 150°C. Konsentrasi gula reduksi cenderung mengalami peningkatan dengan meningkatnya temperatur dan tekanan.
3.	Fitri Junianti, 2016 Produksi Hidrogen dari Sabut Kelapa Melalui Pretreatment Air Subkritis dan Hidrolisis Enzimatik	Penelitian ini menggunakan air subkritis dengan gas penekan CO ₂ pada tekanan 40, 80, dan 160 bar dengan variabel suhu 120-300°C dan waktu reaksi 60 menit. Konsentrasi gula reduksi cenderung meningkat dengan meningkatnya temperatur. Sedangkan, konsentrasi gula reduksi meningkat dengan semakin besarnya tekanan. Didapatkan konsentrasi maksimum gula reduksi sebesar 7,481 g/L dan <i>yield</i> 0,149 g/g sabut kelapa pada kondisi operasi 150°C, 80 bar dan waktu reaksi 60 menit.

4.	Fredi & Kurniawan, 2015 Pembuatan Gula Reduksi dari Sabut Kelapa dengan Metode <i>Pretreatment</i> Air Subkritis Menggunakan Gas Penekan CO ₂	Penelitian ini menggunakan air subkritis dengan gas penekan CO ₂ pada kondisi operasi 150°C dan 80 bar. Eksperimen dilakukan menggunakan reaktor <i>batch</i> selama 0-60 menit. Yield gula reduksi hasil <i>pretreatment</i> air subkritis terbesar yaitu 37,88% ketika waktu reaksi 40 menit. Yield total yang dihasilkan menurun dari 84,00% untuk waktu reaksi 40 menit menjadi 46,85% untuk waktu reaksi 60 menit.
5.	Bergas & Yorgy, 2015 Pembuatan Gula Reduksi dari Sabut Kelapa dengan Metode <i>Pretreatment</i> Air Subkritis Menggunakan Gas Penekan N ₂	<i>Pretreatment</i> menggunakan air subkritis dengan gas penekan N ₂ dan dilanjutkan hidrolisis enzimatik. Kondisi operasi pada tekanan 20-40 bar dan suhu 110-170°C dalam waktu 1 jam. Hasil konsentrasi gula reduksi terbaik didapatkan pada variabel XII (P = 40 bar, T= 170°C) dengan yield 11,83 %. Sedangkan gula reduksi tertinggi dengan enzim selulase murni didapatkan pada variabel IX (P= 40 bar, T= 110 °C), diperoleh konsentrasi gula reduksi terbesar pada jam ke-12 dengan yield 21,36 %.

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Variabel penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- Tekanan Nitrogen yang disuplai ke reaktor: 60 bar, 80 bar dan 100 bar
- Temperatur reaktor subkritis untuk setiap tekanan:
P = 60 bar → 150°C; 170°C; 190°C
P = 80 bar → 150°C; 170°C; 190°C
P = 100 bar → 150°C; 170°C; 190°C
- Waktu reaksi 20, 40 dan 60 menit.

III.2 Bahan dan Alat

III.2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah:

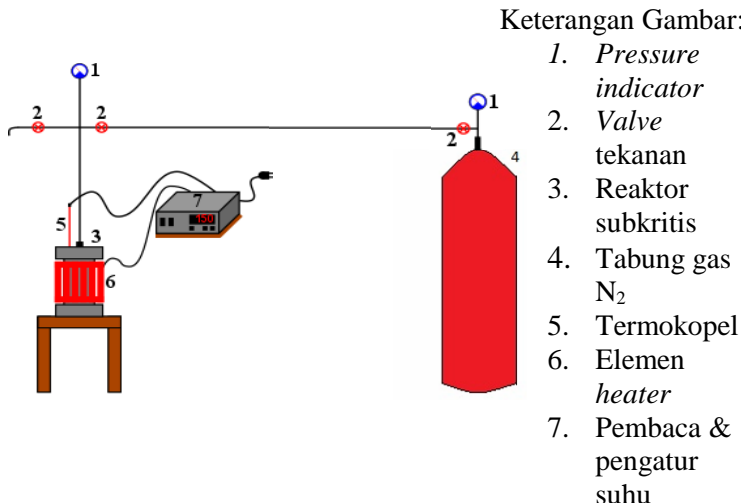
1. Sabut kelapa yang diperoleh dari Sulawesi Utara
2. Air murni (kemurnian 99,9%)
3. Nitrogen (kemurnian 99,9%)
4. Enzim selulase (Sigma-Aldrich, AS)
5. Enzim xilanase (Sigma-Aldrich, AS)
6. Xilan
7. D-glukosa
8. D-xilosa
9. Natrium sitrat
10. Asam sitrat
11. Buffer sitrat
12. DNS (*dinitrosalicylic acid*) (Sigma-Aldrich, Jerman)
13. CMC (*carboxymetil cellulose*) (Sigma-Aldrich, Jerman)
14. NaOH
15. *Sodium potassium tartrate*
16. *Sodium metabisulfite*

III.2.2 Alat Penelitian

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah:

- | | |
|--|---|
| 1. Hot plate dan stirrer
(Cimarec,USA), | 10. Labu ukur, |
| 2. Pipet volumetric, | 11. Oven (VWR S/P 1350
G-2,Amerika), |
| 3. Spectrophotometer
(Cecil CE 1011,
Inggris), | 12. Erlenmeyer, |
| 4. Pipet ukur, | 13. Vacuum Pump
(Welch, AS), |
| 5. Analitical balance
(Ohaus, Cina), | 14. Vortex, |
| 6. Pipet tetes, | 15. Tabung reaksi, |
| 7. Incubator Shaker
(Carbolite, Inggris), | 16. Karet Penghisap, |
| 8. Gelas beker, | 17. Gelas ukur, |
| 9. Kondensor refluks
(Schott, Jerman), | 18. Spatula, |
| | 19. Corong kaca, |
| | 20. Rak Kayu, |
| | 21. Kuvet, |
| | 22. Kertas saring
Whattman, |
23. Reaktor, seperti pada Gambar 3.2.1 memperlihatkan skema peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini. Desain dari peralatan ini diadaptasi dari laporan yang telah dilakukan pada riset sebelumnya (Ju dkk., 2011). Alat ini terdiri atas tabung nitrogen bertekanan tinggi, pemanas, pengontrol temperatur (PID), *valve* pengatur tekanan, *valve* otomatis (*safety valve*), batang magnet pengaduk, reaktor subkritis, pengukur tekanan dan termokopel. Reaktor *batch* ini memiliki volume 500mL. Pada

prinsipnya ada tiga bagian dasar dari peralatan ini, yaitu reaktor subkritis, pemanas, dan *device* pengontrol, dan reaktor yang terbuat dari bahan *stainless steel*. *Thermocouple* dan sensor tekanan dihubungkan dengan reaktor dan terkait dengan alat pengontrol. Proses akan dijalankan dalam cara *batch* dan ditekan dengan nitrogen (kemurnian 99,9%).



Gambar III.1 Desain Peralatan Air Subkritis yang Digunakan dalam Studi Ini

III.3 Prosedur Eksperimen *Pretreatment* Air Subkritis

Prosedur eksperimen dan analisis mengikuti dan diadaptasi pada penelitian yang telah dilaporkan sebelumnya (Judd, 2011). Massa 6 gram sampel kering ukuran 100-120 mesh dicampur dengan 120 mL air murni. Gas nitrogen (N₂) disuplai ke reaktor dengan tekanan 60, 80 dan 100 bar. Untuk masing-masing variabel dipanaskan dalam reaktor subkritis pada temperatur 150, 170 dan 190 °C dengan waktu reaksi 20, 40 dan 60 menit. Data yang akan diperoleh adalah *yield* gula sebagai fungsi temperatur pada kondisi isobar, fungsi tekanan pada

kondisi isothermal dan waktu reaksi pada kondisi isothermal dan isobar. Setelah reaksi selesai, reaktor didinginkan sampai 30°C dan diturunkan tekanannya dengan membuka *valve* otomatis untuk mengeluarkan gas nitrogen. Campuran terdiri dari padatan dan larutan, kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring, dan padatan yang diperoleh dikeringkan selama 2 hari pada 60°C. Padatan yang diperoleh akan dianalisis XRD, FTIR, TGA dan SEM, sedangkan larutan dianalisis dengan metode DNS untuk mendapatkan konsentrasi gula reduksi. Kemudian, data hasil penelitian diolah dengan uji ANOVA dan *Response Surface Design* dengan aplikasi Minitab 16.

III.4 Prosedur Pengukuran *Pretreatment* Air Subkritis

III.4.1 Persiapan dan Pengukuran Konsentrasi Gula Reduksi dengan Metode DNS

III.4.1.1 Pembuatan Buffer Sitrat 0,1 M pH 5,5

Asam sitrat sebanyak 5,7 gram dimasukkan ke dalam labu ukur kemudian ditambahkan 20,67 gram sodium sitrat. Larutan asam sitrat dan sodium sitrat ditambahkan dengan akuades hingga 1000 mL. pH larutan buffer diatur dengan menambah 0,1 M NaOH atau 0,1 M asam sitrat hingga pH larutan buffer menjadi 5,5.

III.4.1.2 Pembuatan Larutan Reagen DNS (Asam Dinitrosalisilat) (Widjaja, 2009)

NaOH sebanyak 16 gram dilarutkan dengan akuades hingga volume 200 mL. Kemudian sodium potassium tartrate sebanyak 30 gram dan sodium metabisulfit sebanyak 8 gram dilarutkan dengan akuades sampai volume 500 mL. Sepuluh gram DNS dilarutkan menggunakan larutan NaOH sebanyak 200 mL. Kemudian larutan DNS ditambahkan kedalam larutan sodium potassium tartrate dan sodium metabisulfit, setelah itu dilarutkan sempurna dengan akuades hingga volume 1000 mL.

III.4.1.3 Pembuatan Kurva Standar Glukosa (Widjaja, 2009)

Larutan induk glukosa dibuat dengan cara, glukosa 0,367 gram ditambahkan 0,1 M buffer sitrat dengan pH 5,5 hingga 100

mL ke dalam labu ukur. Larutan induk glukosa diencerkan pada berbagai macam konsentrasi (0:5; 1:4; 2:3; 3:2; 4:1; 5:0) dengan larutan induk glukosa berturut-turut 0 mL, 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL dan 0,1 M buffer sitrat pH 5,5 sebanyak 5 mL, 4 mL, 3 mL, 2 mL, 1 mL, 0 mL. Selanjutnya sebanyak 0,2 mL dari tiap konsentrasi larutan diambil dan dimasukkan ke dalam larutan standar glukosa dan ditambahkan 1,8 mL akuades ke dalam tabung reaksi. Setelah itu diinkubasi pada temperatur 35°C selama 10 menit dan ditambahkan 3 mL DNS ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya campuran tersebut dihomogenkan dengan menggunakan vortex kemudian dipanaskan pada air mendidih selama 10 menit dan didinginkan dengan menggunakan air es selama 10 menit dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Kurva kalibrasi larutan standar glukosa dibuat dengan mengeplot konsentrasi glukosa terhadap absorbansi.

III.4.1.4 Pembuatan Larutan Blanko (Widjaja, 2009)

Buffer sitrat 0,1 M dengan pH 5,5 sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya diinkubasi selama 10 menit pada temperatur 35 °C dan ditambahkan 3 mL DNS ke dalam tabung reaksi. Kemudian dipanaskan pada air mendidih selama 10 menit. Setelah itu didinginkan dengan menggunakan air es selama 10 menit dan diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 540 nm.

III.4.1.5 Analisa Konsentrasi Glukosa dengan Metode DNS (Miller, 1959)

Sebanyak 0,2 mL *liquid* hasil hidrolisis SCW dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1,8 mL akuades. Setelah itu ditambahkan 3 mL larutan DNS dan dihomogenkan menggunakan *vortex*. Selanjutnya, dipanaskan dengan air mendidih selama 10 menit dan didinginkan dengan air es selama 10 menit. Kemudian setelah temperatur larutan normal (± 25 °C), diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Larutan standarnya menggunakan larutan blanko seperti yang tertulis pada sub-bab III.4.1.4.

III.4.2 Pengukuran Padatan XRD

Analisis sampel lignoselulosa menggunakan XRD (*X-Ray diffraction*). Pengukuran ini akan digunakan untuk menganalisis struktur dari sampel yang telah diberi *pretreatment* dan yang tidak diberi *pretreatment*. Kurva dari XRD untuk selulosa I mempunyai puncak yang kuat di $14,26^\circ$; $16,77^\circ$ dan $22,58^\circ$ yang berhubungan dengan puncak Kristal (110), dan (002). Setelah dilakukan *pretreatment*, pola XRD berubah menjadi selulosa II yaitu terjadi penurunan kristalinitas dimana puncak-puncak terjadi di $2\theta = 12,5^\circ$ dan $20,0^\circ$ (Zhao dkk., 2012). Untuk menghitung *crystalline index* (CI) yaitu rasio antara intensitas ($I_{002}-I_{AM}$) dan intensitas I_{002} , $(I_{002}-I_{AM}) / I_{002}$, setelah dilakukan pengurangan dengan *background signal* tanpa sampel. Posisi intensitas minimum terletak di antara puncak (002) dan (101) (I_{AM} , kira-kira di $18,3^\circ$), sedangkan puncak dari amorphous berlokasi di sekitar $20,7^\circ$, sementara xilan (murni) di $19,5^\circ$ (Zhu dkk., 2012; Zhao dkk., 2012; and Park dkk., 2010).

III.5 Prosedur Eksperimen Hidrolisis Sabut Kelapa dengan Campuran Enzim Selulase dan Xilanase (Anwar, 2011)

Sebanyak 1 gram sabut kelapa yang sudah dilakukan *pretreatment* dengan metode air subkritis ditambahkan enzim campuran selulase dan xilanase dengan rasio enzim dengan substrat sebesar 18,6 U/1 gram sabut kelapa. Selanjutnya, ditambahkan buffer sitrat 0,1 M pH 3 ke dalam larutan enzim dan sabut kelapa sampai 30 mL. Larutan dimasukkan ke dalam inkubator *shaker* pada suhu 60°C dan 125 rpm. Konsentrasi glukosa dianalisa dalam hidrolisat dengan metode DNS setiap selang waktu 4 jam selama 24 jam.

III.6 Prosedur Pengukuran Hidrolisis Enzimatik

III.6.1 Persiapan dan Pembuatan Larutan Enzim Selulase dan Xilanase Murni

III.6.1.1 Pembuatan Buffer Sitrat 0,1 M pH 3

Asam sitrat sebanyak 14,87 gram dimasukkan ke dalam labu ukur kemudian ditambah 5,06 gram sodium sitrat. Selanjutnya, asam sitrat dan sodium sitrat dilarutkan dengan akuades hingga 1000 mL. pH larutan buffer diatur dengan ditambah NaOH 0,1 M atau asam sitrat 0,1 M hingga pH larutan buffer menjadi 3.

III.6.1.2 Pembuatan Larutan Enzim Selulase dari *Aspergillus niger*

Enzim selulase murni sebanyak 1 gram dilarutkan dengan buffer sitrat pH 3 sampai volume tepat 100 mL dan dipastikan padatan enzim larut sempurna.

III.6.1.3 Pembuatan Larutan Enzim Xilanase dari *Trichoderma longibrachiatum*

Enzim xilanase murni sebanyak 1 gram dilarutkan dengan buffer sitrat pH 3 sampai volume tepat 100 mL dan dipastikan padatan enzim larut sempurna.

III.6.2 Persiapan Uji Aktivitas Enzim

III.6.2.1 Pembuatan Larutan CMC (*Carboxymetil Cellulose*) (Widjaja, 2009)

CMC (*Carboxymetil Cellulose*) ditimbang sebanyak 1 gram kemudian ditambahkan buffer sitrat dengan pH 5,5 hingga 100 mL dan diaduk dengan *stirrer* selama 16 jam.

III.6.2.2 Pembuatan Larutan Xilan

Xilan sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 80 mL buffer sitrat pH 5,5 pada suhu 60 °C. Setelahnya larutan xilan didinginkan dan diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 12 jam. Setelah itu diencerkan dengan buffer sitrat pH 5,5 hingga volume 100 mL.

III.6.2.3 Pembuatan Kurva Standar Glukosa untuk Mengukur Keaktifan Enzim Selulase (Widjaja, 2009)

Larutan induk glukosa dibuat dengan cara, glukosa 0,367 gram ditambahkan buffer sitrat 0,1 M dengan pH 5,5 hingga 100 mL ke dalam labu ukur. Larutan induk glukosa diencerkan pada berbagai macam konsentrasi (0:5; 1:4; 2:3; 3:2; 4:1; 5:0) dengan

larutan induk glukosa berturut-turut 0 mL, 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL dan buffer sitrat 0,1 M pH 5,5 sebanyak 5 mL, 4 mL, 3 mL, 2 mL, 1 mL, 0 mL. Selanjutnya sebanyak 0,2 mL dari tiap konsentrasi larutan diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1,8 mL CMC ke dalam tabung reaksi. Setelah itu diinkubasi pada suhu 35°C selama 10 menit dan ditambahkan 3 mL DNS ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya campuran tersebut dihomogenkan menggunakan *vortex* kemudian dipanaskan pada air mendidih selama 10 menit dan didinginkan dengan menggunakan air es selama 10 menit dan diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 540 nm. Kurva kalibrasi larutan standar glukosa dibuat dengan mengeplot konsentrasi glukosa terhadap absorbansi.

III.6.2.4 Pembuatan Kurva Standar Xilosa Untuk Mengukur Keaktifan Enzim Xilanase (Widjaja, 2009)

D-xilosa ditimbang sebanyak 0,367 gram dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditambahkan buffer sitrat 0,1 M dengan pH 5,5 hingga volume 100 mL. Larutan induk xilosa diencerkan pada berbagai macam konsentrasi (0:5; 1:4; 2:3; 3:2; 4:1; 5:0) menggunakan buffer sitrat 0,1 M pH 5,5. Selanjutnya 0,2 mL dari tiap konsentrasi larutan diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1,8 mL xilan ke dalam tabung reaksi. Kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 10 menit dan ditambahkan 3 mL DNS ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya campuran tersebut dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*, kemudian dipanaskan pada air mendidih selama 10 menit. Setelah itu didinginkan dengan menggunakan air es selama 10 menit dan diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 540 nm. Kurva kalibrasi larutan standar xilosa dibuat dengan mengeplot konsentrasi glukosa terhadap absorbansi.

III.6.3 Uji Aktivitas Enzim

III.6.3.1 Uji Aktivitas Enzim Selulase Sebelum Koreksi (Widjaja, 2009)

Larutan enzim selulase sebanyak 0,2 mL dan larutan CMC sebanyak 1,8 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 35 °C. Kemudian ditambahkan 3 mL DNS ke dalam larutan dan dihomogenkan menggunakan *vortex*. Selanjutnya masing-masing tabung reaksi yang berisi larutan dipanaskan pada air mendidih selama 10 menit. Kemudian didinginkan pada air es selama 10 menit, diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.

III.6.3.2 Uji Aktivitas Enzim Selulase Larutan Koreksi (Widjaja, 2009)

Larutan enzim selulase sebanyak 0,2 mL ditambahkan 3 mL DNS (*dinitrosalicylic acid*) dihomogenkan menggunakan *vortex* dan dipanaskan dalam air mendidih selama 2 menit. Kemudian ditambahkan 1,8 mL larutan CMC selanjutnya masing-masing larutan dipanaskan kembali pada air mendidih selama 10 menit, lalu didinginkan pada air es selama 10 menit. Kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Perhitungan aktivitas enzim dilakukan dengan cara menghitung selisih absorbansi larutan enzim selulase sebelum koreksi dan larutan koreksi enzim, kemudian nilainya dikalikan dengan *slope* kurva standar glukosa.

III.6.3.3 Uji Aktivitas Enzim Xilanase Sebelum Koreksi

Larutan enzim xilanase sebanyak 0,2 mL dan larutan xilan sebanyak 1,8 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 35 °C. Kemudian ditambahkan 3 mL DNS ke dalam larutan dan dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Selanjutnya tabung reaksi yang berisi larutan dipanaskan pada air mendidih selama 10 menit. Kemudian didinginkan pada air es selama 10 menit, diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.

III.6.3.4 Uji Aktivitas Enzim Xilanase Larutan Koreksi

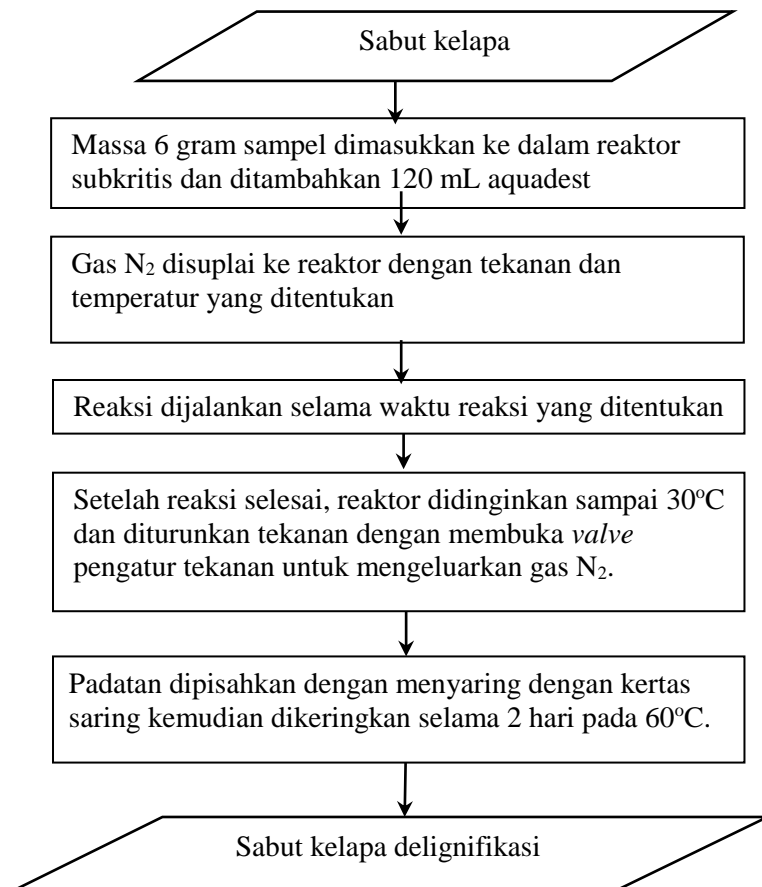
Larutan enzim xilanase sebanyak 0,2 mL ditambahkan DNS sebanyak 3 mL kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Selanjutnya dipanaskan dalam air mendidih selama 2 menit. Kemudian ditambahkan 1,8 mL larutan xilan selanjutnya masing-masing larutan dipanaskan kembali pada air mendidih selama 10 menit, lalu didinginkan pada air es selama 10 menit. Kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Perhitungan aktivitas enzim dilakukan dengan cara menghitung selisih absorbansi larutan enzim xilanase sebelum koreksi dan larutan koreksi enzim, kemudian nilainya dikalikan dengan *slope* kurva standar xilosa.

III.6.4 Analisa Konsentrasi Gula Reduksi dengan Metode DNS (Miller, 1959)

Sampel yang sedang dihidrolisis diambil 2 mL setiap selang waktu tertentu dan dimasukkan di *microtube*, kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 10000 rpm pada 4 °C selama 10 menit untuk memisahkan endapan. Setelah disentrifugasi larutan diambil 0,2 mL dan ditambahkan 1,8 mL akuades ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 3 mL larutan DNS dan dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Selanjutnya dipanaskan dengan air mendidih selama 10 menit dan didinginkan dengan air es selama 10 menit. Kemudian setelah suhu larutan normal (± 25 °C), absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Larutan standarnya menggunakan 2 mL larutan buffer sitrat pH 5,5 yang akan diperlakukan sama seperti sampel hidrolisat glukosa.

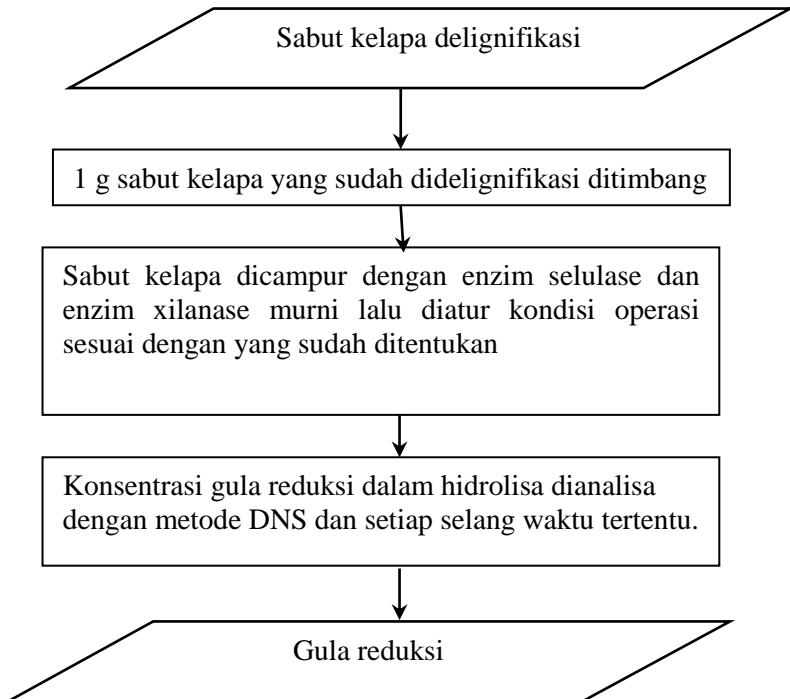
III.7 Diagram Alir Percobaan

III.7.1 *Pretreatment* Sabut Kelapa Menggunakan Air Subkritis

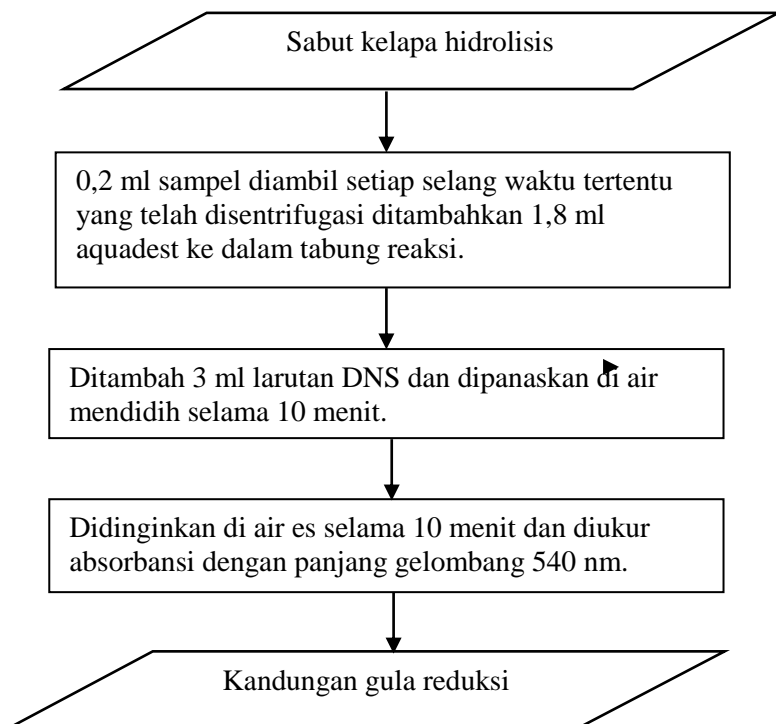


III.7.2 Hidrolisis Sabut Kelapa

1. Hidrolisis Sabut Kelapa dengan Enzim Selulase dan Xilanase



2. Analisa Kadar Gula Reduksi



III.8 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Biokimia, Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Penelitian dilakukan selama bulan Februari 2017 sampai Juni 2017.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan gula reduksi dari sabut kelapa melalui proses *pretreatment* air subkritis dan hidrolisis enzimatik. Dalam penelitian ini, terdapat beberapa tahapan proses yang harus dilakukan yaitu:

1. Tahap *pretreatment* sabut kelapa menggunakan reaktor subkritis.
2. Tahap hidrolisis sabut kelapa dengan enzim selulase dan xilanase.

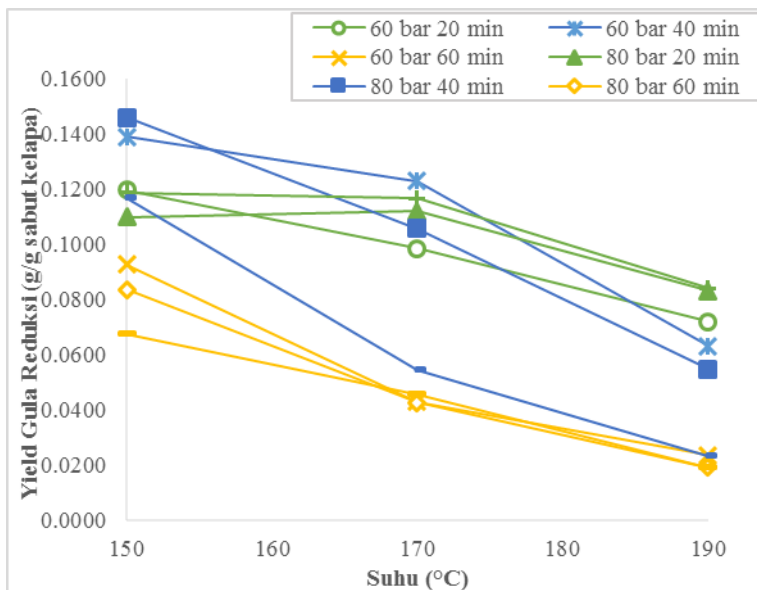
IV.1 *Pretreatment* Subkritis

Pretreatment sabut kelapa dengan reaktor subkritis bertujuan untuk merusak struktur lignin karena struktur lignin pada sabut kelapa bersifat kokoh sehingga dapat menghalangi kinerja enzim dalam mendegradasi selulosa dan hemiselulosa. Air subkritis pada tekanan dan temperatur yang tinggi dapat berperan sebagai pelarut dan dapat menguraikan substrat berupa biomass menjadi komponen penyusunnya, yaitu: xilosa, glukosa, galaktosa, manosa, rhamnosa, dan *uronic acid* (Ju et al., 2011). Berdasarkan hasil analisa chesson, sabut kelapa sebelum diberi *pretreatment* mempunyai komposisi kimia 23,44% selulosa, 12,73% hemiselulosa dan 51,82% lignin. Dengan rusaknya struktur lignin, selulosa dan hemiselulosa yang cukup banyak terkandung dalam lignoselulosa akan lebih mudah diakses oleh enzim sehingga proses hidrolisis berjalan lebih mudah dan dihasilkan gula reduksi yang lebih besar jumlahnya (Asgher, 2013).

Penelitian ini menggunakan metode air subkritis pada tekanan 60, 80 dan 100 bar dengan variabel suhu 150, 170 dan 190 °C serta waktu reaksi 20, 40 dan 60 menit. Dalam penelitian sebelumnya, ukuran optimum untuk proses degradasi jerami padi diperoleh pada ukuran 100-120 mesh (Anwar dkk, 2011). Oleh

sebab itu, sebelumnya telah dilakukan pengayakan sabut kelapa untuk memperoleh ukuran optimum yaitu 100-120 mesh. Hal ini bertujuan untuk memperbesar luas permukaan sehingga memudahkan mendegradasi selulosa dan hemiselulosa menjadi glukosa.

IV.1.2 Analisa Konsentrasi dan *Yield* Gula Reduksi Hasil *Pretreatment* Air Subkritis



Gambar IV.1 *Yield* Gula Reduksi Hasil *Pretreatment* Air Subkritis

Gula reduksi dalam *liquid* hasil *pretreatment* air subkritis dianalisa menggunakan metode DNS (*Dinitrosalicylic acid*) (Sangan, 2015). Hasil yang didapatkan yaitu sejumlah selulosa dan hemiselulosa terkonversi menjadi gula reduksi setelah *pretreatment* air subkritis. Selulosa dan hemiselulosa dari sabut kelapa yang terkonversi menjadi gula reduksi setelah proses *pretreatment* air subkritis dapat dilihat di appendix **Tabel A.2**.

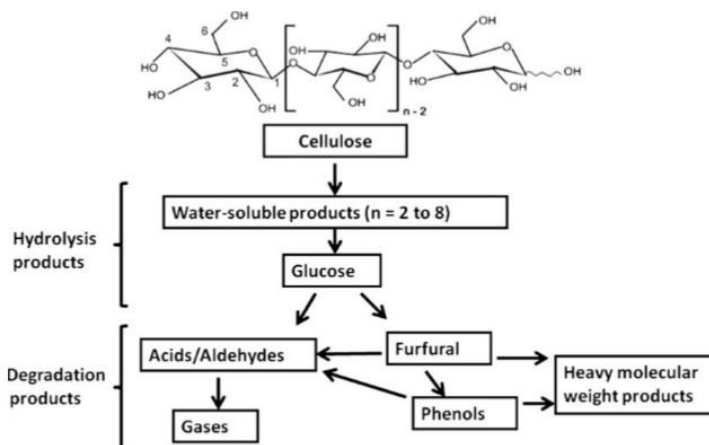
IV.1.2.1 Pengaruh Tekanan, Suhu dan Waktu terhadap *Yield* Gula Reduksi

Gambar IV.1 menunjukkan pengaruh tekanan, suhu dan waktu terhadap *yield* gula reduksi setelah *pretreatment* air subkritis. Seperti yang ditunjukkan pada **Gambar IV.1**, *yield* gula reduksi tertinggi didapatkan pada kondisi operasi 80 bar, 150 °C dan 40 menit sebesar 0,1460 g/g sabut kelapa. Secara umum, dengan menggunakan analisa variansi dua arah (two-way ANOVA), diketahui bahwa dalam *pretreatment* air subkritis, tekanan bukan merupakan kunci parameter. Satu-satunya batasan adalah bahwa tekanan harus cukup tinggi untuk menghindari perubahan fase dan mempertahankan air dalam fase *liquid* ketika menggunakan suhu di atas titik didih (Cantero et al., 2015). Berdasarkan analisa variansi, diketahui bahwa suhu dan waktu memberikan pengaruh yang signifikan terhadap *yield* gula reduksi dimana parameter waktu merupakan faktor yang paling berpengaruh. *Yield* gula reduksi cenderung mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya suhu dan waktu. Ketika suhu dan waktu meningkat dari 150 ke 170 °C dan 20 ke 40 menit, *yield* gula menurun dari 7-15% ke 4-12% dan meningkat dari 7-12% ke 2-15%, kemudian ketika suhu dan waktu meningkat ke 190 °C dan 60 menit, *yield* gula menurun menjadi 2-8% dan 2-9%.

Beberapa studi telah menunjukkan pengaruh suhu terhadap produk degradasi yang dihasilkan. Studi yang dilakukan oleh Yu et al. (2013) melaporkan bahwa total konsentrasi xilosa pada ekstrak bagase tebu setelah *treatment* air subkritis pertama-tama meningkat beriringan dengan suhu, lalu menurun secara tajam di atas suhu 180 °C. Puncaknya berada pada suhu 160 °C. *Trend* penurunan konsentrasi xilosa yang sama juga dilaporkan oleh Weiqi et al. (2013). Setelah suhu *treatment* dinaikkan dari 160 ke 180 °C, *yield* total xilosa dalam ekstrak eukaliptus air subkritis meningkat. Namun, peningkatan suhu lebih lanjut menyebabkan penurunan total *yield* xilosa secara cepat yang diakibatkan oleh degradasi xilosa menjadi furfural. Dekomposisi

xilosa diindikasikan dengan meningkatnya konsentrasi furfural dari 0,24 ke 3,29 g/L dengan menaikkan suhu dari 160 ke 200 °C.

Penurunan *yield* gula pada suhu tinggi mengindikasikan bahwa monomer-monomer hemiselulosa tidak stabil pada kondisi reaksi ekstrim dan kemudian terdegradasi, menyebabkan pembentukan senyawa turunan dari glukosa menjadi inhibitor fermentasi yang tidak diteliti lebih lanjut pada penelitian ini. Produk degradasi yang ditemukan dalam hidrolisat termasuk di dalamnya asetaldehida, asam asetat, *5-hydroxymethyl furfural* (5-HMF), asam laktat, produk gas dan produk lainnya seperti yang ditunjukkan pada Gambar IV.2 (Prado et al., 2016). *Treatment* air subkritis dengan kondisi yang ekstrim dapat mendegradasi gula hemiselulosa menjadi turunan furan, yaitu furfural dan HMF yang berasal dari dehidrasi pentosa dan hexosa. Oleh karena itu, perolehan gula tertinggi biasanya ditemukan pada suhu *intermediate*.



Gambar IV.2 Alur Reaksi Selulosa setelah *Pretreatment* Air Subkritis (Kumar et al., 2010)

Degradasi gula juga meningkat seiring dengan peningkatan waktu. Khuwjitjaru et al. (2012) meneliti jumlah karbohidrat dalam daging buah kelapa yang telah diberi *treatment* air subkritis. Pada suhu 200 °C, jumlah karbohidrat tertinggi didapatkan pada waktu 30 dan 60 menit, namun waktu *treatment* yang lebih lama menyebabkan penurunan jumlah karbohidrat secara bertahap. Hongdan et al. (2013) juga melaporkan bahwa dengan meningkatkan waktu *pretreatment* dari 0 ke 40 menit, *yield* xilosa meningkat kemudian menurun. Ketika waktu dinaikkan dari 0 ke 30 menit, *yield* xilosa dalam prehidrolisat meningkat, lalu penambahan waktu ke 40 menit mengakibatkan *yield* mengalami penurunan. Hasil ini mengindikasikan bahwa solubilitas biomassa meningkat seiring dengan waktu. Meskipun begitu, ketika derajat likuifikasi yang tinggi telah tercapai, melanjutkan proses hanya akan mengakibatkan gula terdegradasi. Gula akan terdegradasi lebih lanjut menjadi produk lain, seperti gliseraldehida, 5-HMF, dan asam.

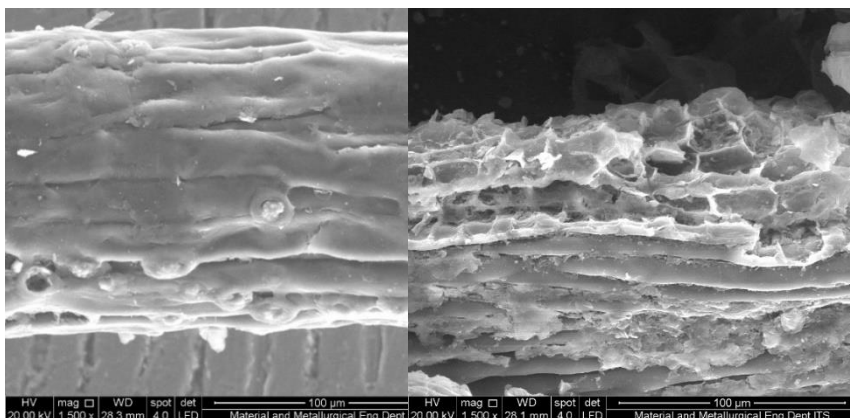
IV.1.3 Karakterisasi Padatan Sabut Kelapa Hasil *Pretreatment* Air Subkritis

Karakterisasi padatan sabut kelapa dilakukan dengan tujuan untuk melihat perubahan struktur yang terjadi setelah *pretreatment* air subkritis. Analisa SEM (*Scanning Electron Microscopy*), FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*), XRD (*X-Ray Diffraction*) dan TGA (*Thermogravimetric Analysis*) dilakukan menggunakan sampel SCW dengan *yield* gula reduksi tertinggi pada kondisi operasi 80 bar, 150 °C dan waktu reaksi 40 menit.

IV.1.3.1 Analisa SEM (*Scanning Electron Microscopy*)

Morfologi permukaan padatan yang belum dilakukan *pretreatment* dan yang telah diberi *pretreatment* air subkritis dianalisa menggunakan SEM. **Gambar IV.3** menunjukkan permukaan sabut kelapa sebelum dilakukan *pretreatment* yang ditandai dengan struktur yang masih teratur, tidak berpori dan tidak ada renggangan. Sedangkan, pori-pori dan renggangan

terlihat jelas pada permukaan padatan yang telah diberi *pretreatment* air subkritis. Perbedaan struktur permukaan ini menunjukkan bahwa *pretreatment* air subkritis dapat memutus dinding sel lignoselulosa, menyebabkan tereksposnya struktur internal (Ciftci et al., 2015). Perubahan struktur kristal ini dapat membuka akses bagi enzim serta meningkatkan kerja enzim dalam menghidrolisa selulosa dan hemiselulosa (Sangian et al., 2015).



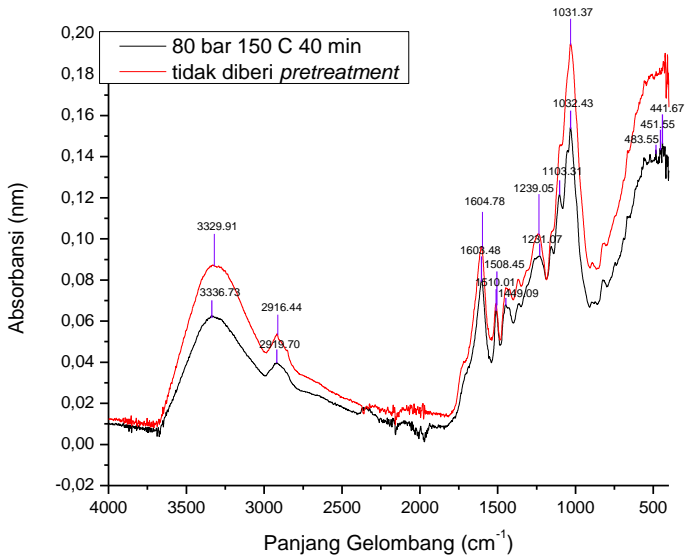
(a)

(b)

Gambar IV.3 Analisa SEM pada (a) Padatan yang Belum Dilakukan *Pretreatment* dan (b) Padatan yang Telah Dilakukan *Pretreatment* Air Subkritis pada 80 bar, 150 °C dan 40 menit

IV.1.3.2 Analisa FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)

Spektrum FTIR dari padatan yang belum diberi *pretreatment* dan yang telah diberi *pretreatment* air subkritis ditunjukkan pada **Gambar IV.4**.

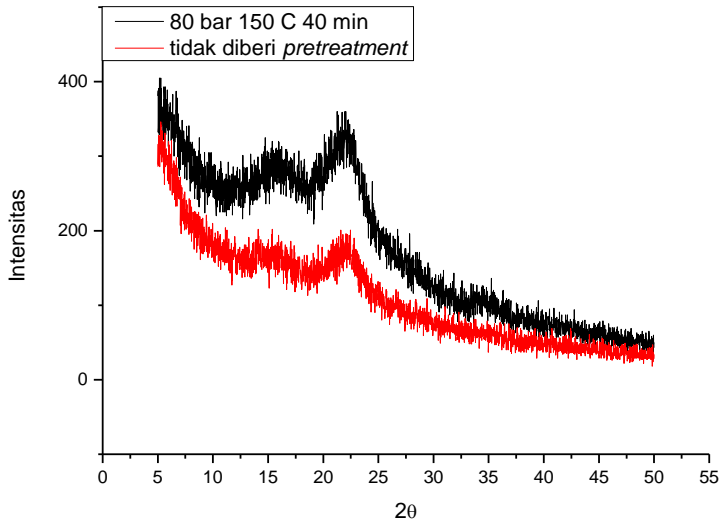


Gambar IV.4 Spektrum *Infrared* Padatan yang Tidak Diberi *Pretreatment* dan Padatan yang Diberi *Pretreatment* Air Subkritis pada Kondisi Operasi 80 bar, 150 °C dan 40 menit

Spektrum *infrared* dari padatan menunjukkan garis yang kuat yang dikaitkan dengan absorpsi *stretching* ikatan O-H pada 3329-3336 cm⁻¹ dan absorpsi *stretching* C-H pada 2916-2919 cm⁻¹. *Stretching* ikatan C=O terjadi pada rentang 1603-1604 cm⁻¹, sedangkan *stretching* ikatan C-O pada rentang 1508-1510 cm⁻¹ mengindikasikan adanya vibrasi pada cincin aromatik lignin. *Bending* C-H hanya terjadi pada sampel *pretreatment* pada 1449 cm⁻¹ mengindikasikan adanya unit siringil (S) sebagai salah satu unit penyusun lignin yang menandakan terurainya lignin setelah *pretreatment* air subkritis. Pada rentang 1031-1032 cm⁻¹ terlihat adanya vibrasi pada fosfat anorganik melalui ikatan C-O alkohol primer dan *guaiacyl* C-H. Vibrasi pada rentang 1103 cm⁻¹ yang hanya ada pada sampel *pretreatment* menunjukkan terbentuknya ikatan kristal C-O (Ozturk et al., 2010) dan peregangannya selulosa dan hemiselulosa C-O-C asimetris (Xu et al., 2013). Munculnya

puncak vibrasi yang hanya ada pada sampel *pretreatment* menunjukkan adanya proses delignifikasi dan pelarutan hemiselulosa dan selulosa.

IV.1.3.3 Analisa XRD (*X-Ray Diffraction*)

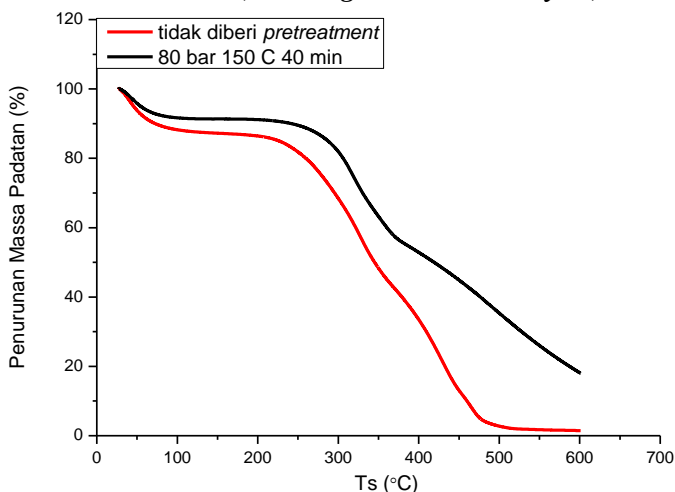


Gambar IV.5 Analisa XRD pada Padatan yang Tidak Diberi *Pretreatment* dan yang Telah Diberi *Pretreatment* Air Subkritis pada Kondisi Operasi 80 bar, 150 °C dan 40 menit

Gambar IV.5 menunjukkan perbandingan pola difraksi antara padatan yang belum diberi *pretreatment* dengan padatan yang telah diberi *pretreatment* air subkritis pada kondisi optimum. Padatan sabut kelapa yang telah diberi *pretreatment* air subkritis menunjukkan pola difraksi yang luas dengan intensitas lebih tinggi dari padatan sabut kelapa yang belum diberi *pretreatment*. Ciftci et al. (2015) melaporkan indeks kristalin *sweet blue lupin* yang belum diberi *pretreatment* dengan yang telah diberi *pretreatment* air subkritis meningkat dari 11,5% menjadi 58,6%. Mohan et al. (2015) juga melaporkan nilai

kristalin setelah *pretreatment* sebesar 65,83% yang mengalami peningkatan dari sampel yang belum diberi *pretreatment* sebesar 50,55%. Hal ini dikarenakan sebagian hemiselulosa dan lignin yang memiliki struktur amorf telah berkurang setelah *pretreatment* air subkritis, menyebabkan meningkatnya nilai kristalin selulosa yang lebih resistan terhadap suhu dan tekanan tinggi (Mohan et al., 2015).

IV.1.3.4 Analisa TGA (*Thermogravimetric Analysis*)



Gambar IV.6 Kurva *Thermo-Gravimetri* dari Padatan yang Tidak Diberi *Pretreatment* dan Padatan yang Telah Diberi *Pretreatment* Air Subkritis pada Kondisi Operasi 80 bar, 150 °C dan 40 menit

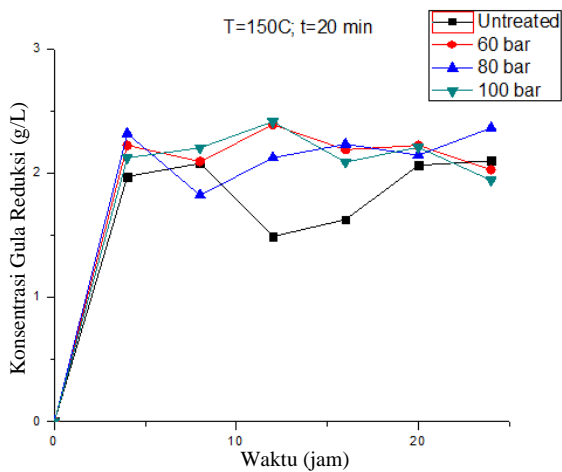
Analisa TGA digunakan untuk mengukur stabilitas termal sabut kelapa. **Gambar IV.6** menunjukkan data *thermo-gravimetri* (TG) dari padatan yang tidak diberi *pretreatment* dan padatan yang telah diberi *pretreatment* air subkritis pada kondisi operasi 80 bar, 150 °C dan 40 menit. Proses pirolisis sabut kelapa dengan TG dapat terbagi menjadi 4 *range* suhu, yakni: <220°C

dekomposisi kadar air; 220-315°C dekomposisi hemiselulosa; 315-400°C dekomposisi selulosa dan >400°C dekomposisi lignin (Ciftci & Saldana, 2015). Sabut kelapa yang telah diberi *pretreatment* menunjukkan stabilitas termal yang lebih tinggi dibandingkan dengan sabut kelapa yang tidak diberi *pretreatment*, seperti yang terlihat dari persen penurunan massa padatan pada sampel yang tidak diberi *pretreatment* berkurang sekitar 22,69% dan setelah *pretreatment* sekitar 14,4%. Sabut kelapa yang tidak diberi *pretreatment* mulai terdekomposisi pada suhu 200 °C dan yang sudah diberi *pretreatment* terdekomposisi pada suhu 300 °C. Perbedaan kurva TG mengindikasikan bahwa padatan yang telah diberi *pretreatment* air subkritis memiliki struktur kristalin yang lebih tinggi akibat adanya penghilangan lignin yang berstruktur amorf, sehingga padatan membutuhkan suhu yang lebih tinggi agar dapat terdekomposisi (Ciftci et al., 2015).

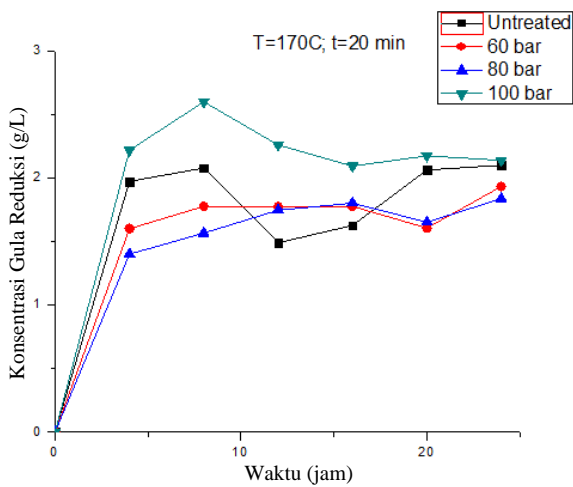
IV.2 Hidrolisis Enzimatik Sabut Kelapa

IV.2.1 Hidrolisis Enzimatik Sabut Kelapa dengan Enzim Selulase dan Enzim Xilanase

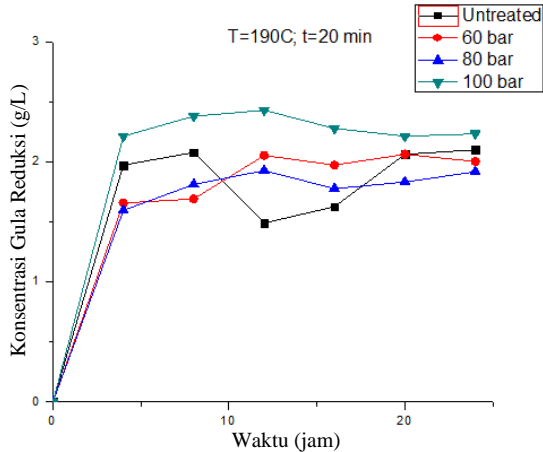
Gula reduksi hasil hidrolisis pada berbagai variabel dalam selang waktu tertentu dapat dilihat pada appendix dan pada Gambar IV.2 dan Gambar IV. 3



(a)



(b)

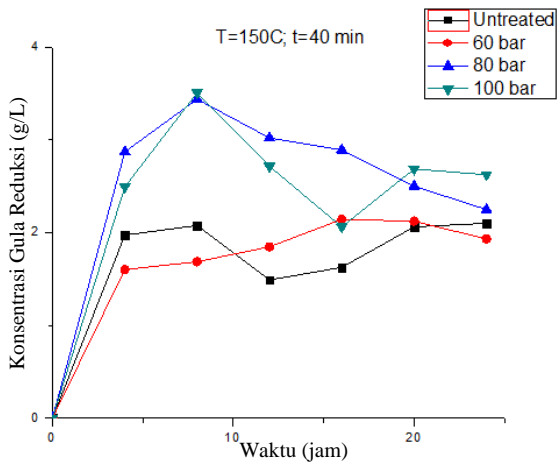


(c)

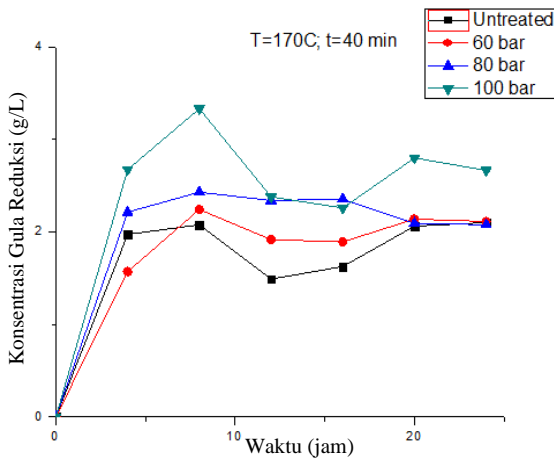
Gambar IV.7 Grafik Konsentrasi Gula Reduksi Hasil Hidrolisis Enzimatis dari Padatan yang Telah Diberi *Pretreatment* selama 20 menit pada suhu (a) 150 °C (b) 170 °C dan (c) 190 °C

Gambar IV.7 dibandingkan berdasarkan lamanya reaksi air subkritis pada proses *pretreatment* sabut kelapa dalam hal ini 20 menit. Pada kondisi *pretreatment* suhu 150 °C yang terdiri dari 3 variabel tekanan yaitu 60,80 dan 100 bar, konsentrasi gula hasil hidrolisis enzimatis cenderung naik sampai jam ke 4 untuk semua variabel dan cenderung mengalami fluktuasi hingga jam ke 24. Kadar gula tertinggi pada variabel 60, 80 dan 100 bar didapatkan berturut-turut pada waktu hidrolisis ke 16, 12 dan 12 jam. Untuk kondisi *pretreatment* suhu 170°C, konsentrasi gula hasil hidrolisis enzimatis cenderung naik sampai jam ke 4 untuk variabel 60 dan 100 bar sedangkan variabel 80 bar terus mengalami kenaikan konsentrasi sampai jam ke 8 dan mengalami penurunan sampai jam ke 24. Pada kondisi *pretreatment* 190°C cenderung hampir sama dengan variabel 170 °C, dimana kondisi 100 bar yang mengalami kenaikan sampai pada jam ke 8. Dari tiga grafik data diatas, kadar gula tertinggi diperoleh dari variabel *pretreatment*

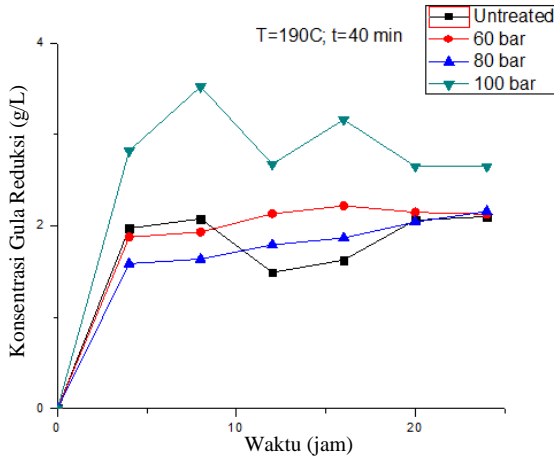
80 bar dan 150°C waktu hidrolisis enzimatik 12 jam yaitu 2,39 g/L.



(d)



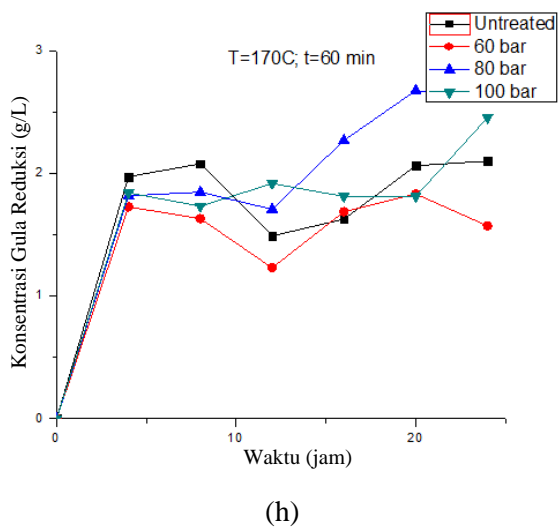
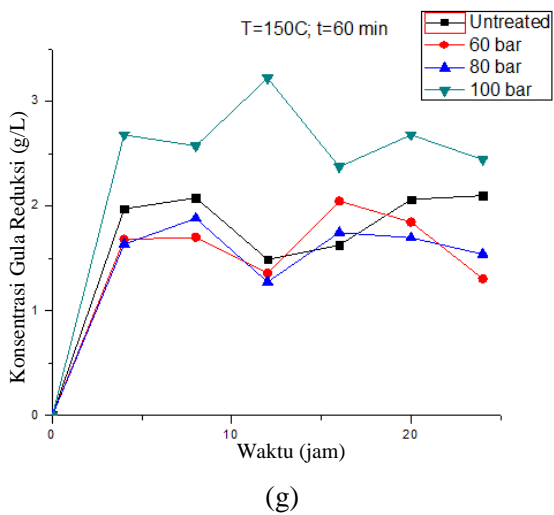
(e)

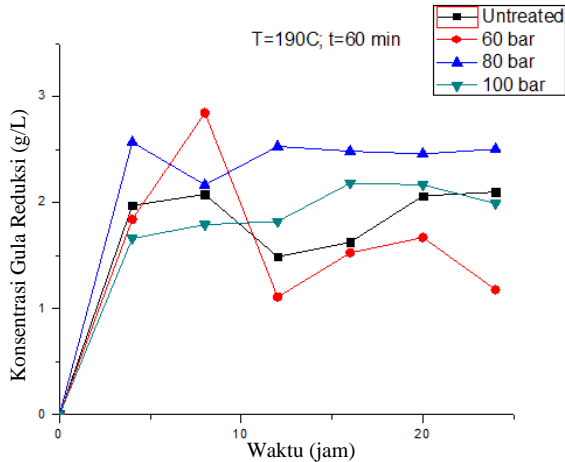


(f)

Gambar IV.8 Grafik Konsentrasi Gula Reduksi Hasil Hidrolisis Enzimatis dari Padatan yang Telah Diberi *Pretreatment* selama 40 menit pada suhu (d) 150 °C (e) 170 °C dan (f) 190 °C

Dari Gambar IV.8 pada kondisi *pretreatment* suhu 150°C yang terdiri dari 3 variabel tekanan yaitu 60, 80 dan 100 bar, konsentrasi gula hasil hidrolisis enzimatis cenderung meningkat sampai jam ke 8 untuk variabel 80 dan 100 bar dan dilanjutkan penurunan kadar gula pada jam ke 8 sampai 24. Sedangkan untuk variabel 60 bar mengalami peningkatan maksimal pada jam ke 20 hidrolisis enzimatis. Untuk kondisi *pretreatment* suhu 170°C konsentrasi gula hasil hidrolisis enzimatis cenderung naik sampai jam ke 4 untuk variabel 60 dan 80 bar sedangkan variabel 100 bar terus mengalami kenaikan konsentrasi sampai jam ke 8 dan cenderung stabil sampai jam ke 24. Pada kondisi *pretreatment* 190°C cenderung hampir sama dengan variabel 170 °C, dimana kondisi 80 bar yang mengalami kenaikan sampai pada jam ke 8. Dari tiga grafik diatas, kadar gula tertinggi diperoleh dari variabel *pretreatment* 100 bar dan 170°C waktu hidrolisis enzimatis 8 jam yaitu 3,24 g/L.





(i)

Gambar IV.9 Grafik Konsentrasi Gula Reduksi Hasil Hidrolisis Enzimatis dari Padatan yang Telah Diberi *Pretreatment* selama 60 menit pada suhu (g) 150 °C (h) 170 °C dan (i) 190 °C

Dari Gambar IV.9 pada kondisi *pretreatment* suhu 150 °C yang terdiri dari 3 variabel tekanan yaitu 60, 80 dan 100 bar, konsentrasi gula hasil hidrolisis enzimatis cenderung meningkat sampai jam ke 4 untuk semua variabel. Pada jam ke 4 sampai 24 kadar gula yang dihasilkan cenderung fluktuatif. Hasil gula tertinggi didapatkan pada jam ke 16 hidrolisis enzimatis yaitu sebesar 2,72 g/L untuk variabel 100 bar. Untuk kondisi *pretreatment* suhu 170 °C, konsentrasi gula hasil hidrolisis enzimatis cenderung naik sampai jam ke 4 untuk semua variabel dan cenderung mengalami fluktuasi sampai jam ke 24. Hasil gula tertinggi didapatkan pada jam ke 24. Hidrolisis enzimatis yaitu sebesar 2,56 g/L untuk variabel 80 bar. Pada kondisi *pretreatment* 190 °C cenderung hampir sama dengan variabel 170 °C, dimana hasil gula tertinggi didapatkan pada jam ke 24 hidrolisis enzimatis yaitu sebesar 2,32 g/L untuk variabel 80 bar. Dari tiga

grafik data diatas, kadar gula tertinggi diperoleh dari variabel *pretreatment* 100 bar dan 150°C yaitu 2,72 g/L.

Pada Gambar IV.7 sampai IV.9, menunjukkan hasil hidrolisis tiap variabel *pretreatment* air subkritis. Kenaikan konsentrasi gula reduksi secara signifikan terjadi dari jam ke-0 sampai jam ke-4. Hal ini disebabkan karena secara teoritis, karakteristik dari hidrolisis enzimatis adalah memiliki *initial rate* hidrolisis yang tinggi kemudian diikuti dengan semakin melambatnya laju hidrolisis dan tidak dapat dicapainya proses hidrolisis yang sempurna (Mansfield, et al., 1999). Studi yang dilakukan oleh Sanchez-Ramirez (2016) juga menunjukkan bahwa aktivitas enzim menurun secara kontinyu dan hanya mencapai 20% aktivitas awalnya setelah pra-inkubasi pada 60 °C selama 4 jam. Konsentrasi gula reduksi relatif mengalami penurunan setelah waktu hidrolisis selama 8 jam. Hal ini dapat dijelaskan karena diameter dari rantai selulosa semakin meningkat dan menjadikan tidak sesuai dengan luas enzim sehingga daya cerna enzim berkurang setelah jangka waktu tertentu. Selain itu, pengambilan larutan yang dipenuhi oleh padatan, juga sangat mempengaruhi hasil analisa DNS. Sehingga hasil cairan yang terambil bukan yang mengandung gula reduksi, melainkan lebih banyak gula reduksi yang belum terhidrolisis sempurna. DNS yang digunakan juga mempengaruhi hasil analisa, sehingga saat dianalisa dengan spektrofotometer apabila berbeda DNS, hasil analisa juga berbeda.

Kemampuan enzim menghidrolisis dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya kandungan hemiselulosa, porositas, kristalin/amorf selulosa, kandungan lignin pada sampel, aktivitas enzim, pH dan konsentrasi substratnya sendiri. Pada Appendix Tabel A.8 terlihat *yield* tertinggi dari padatan hasil hidrolisis enzimatis pada sampel air subkritis dengan kondisi operasi suhu 190 °C, tekanan 100 bar dan waktu reaksi 40 menit yaitu sebesar 9,91 gram gula reduksi per 100 gram sabut kelapa. *Yield* gula tertinggi pada variabel waktu reaksi air subkritis 20 menit adalah pada kondisi suhu 170 °C dan tekanan 100 bar dengan nilai *yield*

sebesar 7,52%. Sedangkan pada variabel waktu reaksi subkritis 60 menit *yield* gula tertinggi pada kondisi suhu 150 °C dan tekanan 100 bar yaitu sebesar 8,98%.

Hal ini terjadi karena perbedaan kandungan selulosa dan hemiselulosa yang terdapat pada sampel padatan dan keadaan lignin setelah dilakukan *treatment*. Jumlah selulosa dan hemiselulosa pada tekanan sampel 100 bar diprediksi masih tinggi karena pada *treatment* air subkritis variabel tekanan tidak memiliki signifikansi terhadap jumlah konsentrasi gula reduksinya. Sehingga penambahan tekanan tidak menyebabkan besarnya konsentrasi gula yang dihasilkan. Sejalan dengan itu variabel tekanan memiliki signifikansi yang tinggi pada analisa variansi konsentrasi gula reduksi hasil hidrolisis enzimatik sehingga dapat dikatakan terjadinya porositas yang tinggi pada struktur lignin dengan penambahan tekanan. Hal ini yang memberi akses lebih terhadap enzim selulase dan xilanase untuk mendegradasi selulosa dan hemiselulosa menjadi gula reduksi. Seperti penelitian Zhang dan Wu (2013), pada hidrolisis enzimatik hasil *pretreatment* air subkritis pada suhu dan waktu yang sama terjadi peningkatan *yield* gula reduksi dengan meningkatnya variabel tekanan.

IV.2.2 Massa Total Gula Reduksi

Massa total gula reduksi merupakan jumlah massa gula reduksi yang didapatkan pada *pretreatment* air subkritis dan hidrolisis enzimatik. Pada Tabel IV.1 massa gula reduksi tertinggi pada *pretreatment* air subkritis adalah 0,88 g pada 80 bar, 150°C dan 40 menit sedangkan pada hidrolisis enzimatik massa gula reduksi tertinggi sebesar 0,59 g pada 100 bar, 150°C dan 40 menit. Massa gula reduksi setiap variabel air subkritis cenderung mengalami penurunan setelah dilakukan hidrolisis enzimatik. Seperti ditunjukkan pada variabel pada 80 bar, 150°C dan 40 menit dimana massa gula reduksi berkurang dari 0,88 g pada *pretreatment* air subkritis menjadi 0,52 g pada hidrolisis enzimatik. Hal ini terjadi karena sebagian besar hemiselulosa dan selulosa telah terdegradasi menjadi gula reduksi pada

pretreatment air subkritis sehingga pada hidrolisis enzimatis hanya sebagian kecil hemiselulosa dan selulosa yang terdegradasi oleh enzim selulase dan xilanase.

Pada penelitian ini, massa total gula reduksi untuk variabel tekanan dan waktu yang sama mengalami penurunan dengan bertambahnya suhu. Pada variabel tekanan dan suhu yang sama, massa total gula reduksi cenderung mengalami peningkatan dengan meningkatnya waktu reaksi *pretreatment* air subkritis sampai waktu 40 menit dan mengalami penurunan di waktu reaksi 60 menit. Sedangkan pada peningkatan variabel tekanan pada suhu dan waktu yang sama memberikan hasil fluktuatif dan tidak menunjukkan hasil yang konsisten baik naik ataupun turun. Hal ini sesuai dengan analisa variansi parameter air subkritis terhadap total gula reduksi, dimana tekanan adalah satu-satunya variabel yang tidak memiliki signifikansi terhadap total massa gula reduksi yang dihasilkan. Pada tabel IV.1 terlihat bahwa *yield* total gula reduksi tertinggi didapatkan dari sabut kelapa yang diberikan *pretreatment* air subkritis pada tekanan 80 bar, suhu 150 dan waktu reaksi 40 menit dengan *yield* 23,29 gram gula reduksi per 100 gram sabut kelapa atau 64,38 gram gula reduksi per 100 gram selulosa dan hemiselulosa.

Tabel IV.1 Perbandingan Massa Gula Reduksi Hasil Pretreatment Air Subkritis, Hidrolisis Enzimatik dan Total Gula Reduksi Sabut Kelapa pada Berbagai Variabel

Variabel			<i>Pre-treatment</i> Air Subkritis	Hidro-lisis Enzi-matik	Total Massa Gula Reduksi	% <i>Yield</i> 1 *	% <i>Yield</i> 2*
t (min)	P (bar)	T (°C)	Massa Gula Reduksi (g)	Massa Gula Reduksi (g)	Massa Air Subkritis + Hidrolisis Enzimatik (g)	(/Mas-sa Sabut Kelapa)	(/ Massa H+S)
20	60	150	0,72	0,45	1,16	19,40	53,63
		170	0,59	0,34	0,93	15,54	42,96
		190	0,43	0,37	0,81	13,43	37,14
	80	150	0,66	0,42	1,08	17,97	49,68
		170	0,67	0,33	1,00	16,61	45,91
		190	0,50	0,33	0,83	13,87	38,36
	100	150	0,71	0,43	1,14	18,97	52,44
		170	0,70	0,45	1,15	19,19	53,05
		190	0,50	0,42	0,92	15,35	42,45
	60	150	0,83	0,38	1,21	20,19	55,81
		170	0,74	0,37	1,11	18,51	51,17
		190	0,38	0,43	0,81	13,47	37,24
40	60	150	0,88	0,52	1,40	23,29	64,38
		170	0,63	0,43	1,07	17,79	49,19
		190	0,33	0,37	0,70	11,65	32,21
	80	150	0,70	0,59	1,30	21,60	59,72
		170	0,33	0,58	0,91	15,18	41,97
		190	0,14	0,59	0,74	12,25	33,87
	100	150	0,56	0,40	0,96	15,99	44,20
		170	0,26	0,32	0,58	9,60	26,54
		190	0,14	0,48	0,62	10,30	28,47
	60	150	0,50	0,36	0,86	14,39	39,79
		170	0,26	0,49	0,75	12,45	34,42
		190	0,12	0,48	0,60	9,96	27,52
60	80	150	0,41	0,54	0,94	15,75	43,53
		170	0,27	0,44	0,72	11,93	32,99
		190	0,12	0,39	0,51	8,48	23,44

* Massa gula total dibagi total sabut kelapa yang masuk

** Massa gula total reduksi dibagi massa selulosa dan hemiselulosa sampel yang belum diberi *pretreatment*.

IV.3 Uji Signifikansi

Confidence level yang digunakan dalam analisa variansi ini adalah 95% sehingga diperoleh nilai $\alpha = 0,05$. Artinya jika pengujian menggunakan tingkat signifikansi 0,05 berarti hasil riset mempunyai kesempatan atau tingkat kepentingan (*confidence interval*) untuk benar 95% serta peluang memperoleh kesalahan maksimal 5% (toleransi kesalahan).

Tabel IV.2 Analisa Variansi Pengaruh Parameter Air subkritis Terhadap Konsentrasi Gula di Hidrolisat dengan Minitab *Two ways* ANOVA

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
tekanan	2	4,0586	4,0586	2,0293	3,03	0,065
suhu	2	76,1971	76,1971	38,0986	56,92	0,000
waktu	2	68,6202	68,6202	34,3101	51,26	0,000
tekanan*suhu	4	0,4330	0,4330	0,1082	0,16	0,956
tekanan*waktu	4	9,8684	9,8684	2,4671	3,69	0,016
suhu*waktu	4	8,2352	8,2352	2,0588	3,08	0,033
tekanan*suhu*waktu	8	9,7984	9,7984	1,2248	1,83	0,115
Error	27	18,0733	18,0733	0,6694		
Total	53	195,2842				

S = 0,818157 R-Sq = 90,75% R-Sq(adj) = 81,83%

Tabel IV.3 Analisa Variansi Pengaruh Parameter Air Subkritis Terhadap Konsentrasi Gula Hasil Hidrolisis Enzimatik dengan Minitab *Two Ways* ANOVA

Source	DF	SS	MS	F	P
Tekanan	2	3,41947	1,70974	36,26	0,000
Suhu	2	0,38012	0,19006	4,03	0,029
Waktu	2	1,90275	0,95137	20,17	0,000
Tekanan*Suhu	4	0,55134	0,13783	2,92	0,039
Tekanan*Waktu	4	1,37508	0,34377	7,29	0,000
Suhu*Waktu	4	0,25357	0,06339	1,34	0,279
Tekanan*Suhu*Waktu	8	2,46973	0,30872	6,55	0,000
Error	27	1,27326	0,04716		
Total	53	11,62532			

S = 0,217158 R-Sq = 89,05% R-Sq(adj) = 78,50%

Nilai signifikansi pada tabel IV.2 untuk variabel suhu dan waktu adalah 0,000 dan variabel tekanan 0,065, sehingga yang mempunyai pengaruh signifikan yang besar terhadap konsentrasi gula reduksi hanya variabel suhu dan waktu karena memiliki nilai signifikansi $< 0,05$. Pengujian signifikansi ini membuktikan bahwa konsentrasi gula reduksi pada proses air subkritis sangat dipengaruhi oleh kondisi operasi suhu dan lamanya waktu reaksi. Sedangkan pada tabel IV.3 nilai signifikansi untuk variabel tekanan dan waktu adalah 0,000 dan untuk variabel suhu 0,029, sehingga ketiga variabel ini memiliki pengaruh signifikan yang besar terhadap konsentrasi gula reduksi karena memiliki nilai signifikansi $< 0,05$. Pengujian signifikansi ini membuktikan bahwa konsentrasi gula reduksi pada proses hidrolisis enzimatis sangat dipengaruhi oleh kondisi operasi suhu, besarnya gas penekan dan lamanya waktu reaksi pada proses *pretreatment* air subkritis.

Tabel IV.4 Analisa Variansi Pengaruh Parameter Air Subkritis Terhadap Total Gula Reduksi dengan Minitab *Two Ways* ANOVA

Source	DF	SS	MS	F	P
Suhu	2	1,24530	0,62265	65,53	0,000
Waktu	2	0,93201	0,46600	49,05	0,000
Tekanan	2	0,02627	0,01314	1,38	0,268
Suhu*Waktu	4	0,10517	0,02629	2,77	0,048
Suhu*Tekanan	4	0,01904	0,00476	0,50	0,735
Waktu*Tekanan	4	0,04726	0,01181	1,24	0,316
Suhu*Waktu*Tekanan	8	0,24577	0,03072	3,23	0,010
Error	27	0,25653	0,00950		
Total	53	2,87734			

S = 0,0974737 R-Sq = 91,08% R-Sq(adj) = 82,50%

Pada Tabel IV.4 nilai signifikansi untuk variabel suhu dan waktu adalah 0,000 dan untuk variabel tekanan 0,268, sehingga hanya variabel suhu dan waktu yang memiliki pengaruh signifikan yang besar terhadap total gula reduksi karena nilai signifikansinya $< 0,05$. Selain itu jika dilakukan interaksi antara 2 variabel, nilai P_{value} yang didapatkan dari interaksi variabel suhu*waktu dan waktu*tekanan adalah sebesar 0,048 dan 0,316. Nilai tersebut lebih rendah daripada P_{value} yang didapatkan dari interaksi antara suhu*tekanan, sehingga dapat disimpulkan bahwa waktu adalah variabel yang memiliki pengaruh paling signifikan terhadap total massa gula reduksi.

IV.4 Penentuan Variabel Optimum

Untuk mengetahui model hubungan variabel proses terhadap respon, maka dilakukan variasi parameter berdasarkan rancangan percobaan atau *design of experiment* (DOE) pada minitab (Didik Wahjudi, 1999). Dalam penelitian ini terdapat 3 variabel independen yang diperlihatkan sebagai variabel yang mempengaruhi pembuatan gula reduksi, yaitu tekanan, suhu, dan waktu reaksi.

IV.4.1 Rancangan Eksperimen (*Design of Experiment*)

Pada rancangan design ini, analisa data input akan dilakukan dengan *metode box behnken* tiga faktor (tiga variabel) dengan pengulangan data sebanyak dua kali agar meningkatkan ketepatan eksperimen. Tampilan variabel *input* sesuai dengan rancangan metode *box behnken* dapat dilihat pada appendiks.

Untuk mengetahui variabel *input* pada rancangan ini berpengaruh signifikan, maka dilakukan analisa statistik ANOVA. Pada uji ANOVA ini hipotesis yang akan diuji yaitu H_0 dan H_1 dengan definisi:

H_0 : tidak ada efek antar *variable input* dan tidak terdapat efek interaksi antar *variable input* yang berpengaruh terhadap respon.

H_1 : paling sedikit ada satu *variable input* yang berpengaruh

Pengolahan data pada rancangan eksperimen ini ditampilkan pada Table IV.5:

Tabel IV.5 Hasil ANOVA Rancangan Desain Tiga Faktor
Metode
BoxBehnken

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	71,6893	71,6893	7,9655	10,12	0,000
Linear	3	62,7970	62,7970	20,9323	26,59	0,000
TEKANAN	1	0,0768	0,0768	0,0768	0,10	0,758
SUHU	1	33,3183	33,3183	33,3183	42,32	0,000
WAKTU	1	29,4019	29,4019	29,4019	37,34	0,000
Square	3	4,0225	4,0225	1,3408	1,70	0,199
TEKANAN*TEKANAN	1	0,5592	0,8786	0,8786	1,12	0,303
SUHU*SUHU	1	1,1890	1,4477	1,4477	1,84	0,190
WAKTU*WAKTU	1	2,2743	2,2743	2,2743	2,89	0,105
Interaction	3	4,8698	4,8698	1,6233	2,06	0,138
TEKANAN*SUHU	1	2,7967	2,7967	2,7967	3,55	0,074
TEKANAN*WAKTU	1	0,2945	0,2945	0,2945	0,37	0,548
SUHU*WAKTU	1	1,7786	1,7786	1,7786	2,26	0,148
Residual Error	20	15,7467	15,7467	0,7873		
Lack-of-Fit	3	4,0650	4,0650	1,3550	1,97	0,156
Pure Error	17	11,6816	11,6816	0,6872		
Total	29	87,4360				

Dari uji ANOVA diatas, memperlihatkan P_{value} yang merupakan signifikansi besarnya pengaruh variabel. Hampir semua P_{value} yang diperoleh lebih dari nilai signifikansi yang ditetapkan yaitu 0,05. Hal ini berarti ada 2 variabel yang berpengaruh yaitu suhu dan waktu dengan nilai signifikansi 0,000 sehingga dapat disimpulkan H_1 diterima karena masih ada variabel yang signifikan berpengaruh terhadap respon.

Kemudian dilakukan pengujian kesesuaian model dengan menggunakan uji *lack-of-fit* (ketidaksesuaian model). Hipotesis yang digunakan:

H_0 : Tidak ada *lack of-fit* dalam rancangan eksperimen

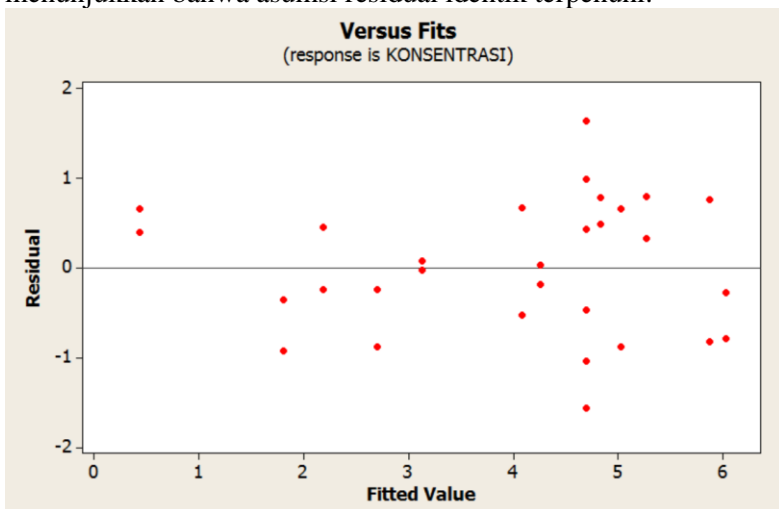
H_1 : Ada *lack of-fit* dalam rancangan eksperimen

Dari hasil analisa data table ANOVA diatas diperoleh *lack-of-fit t* signifikan ($P_{\text{value}} > \alpha$) = 0,156 sehingga H_0 diterima, artinya terdapat kesesuaian dengan model.

Dari uji parameter regresi secara serentak diperoleh P_{value} = 0,000 atau lebih kecil dari derajat signifikansi $\alpha = 0,05$ yang

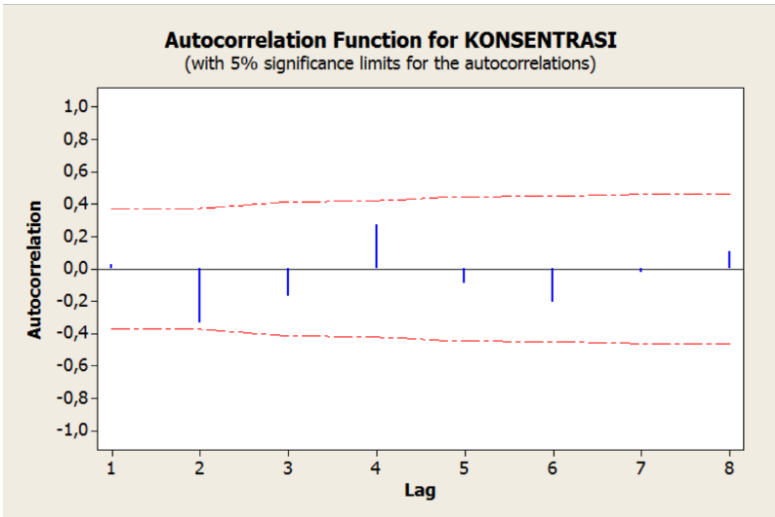
berarti secara keseluruhan variabel independen mewakili. Hal ini mengindikasikan model rancangan eksperimen ini cocok untuk digunakan dan dilanjutkan dengan pengujian asumsi residual yang terdiri dari uji identik, independen dan distribusi normal.

Uji identik bertujuan untuk memeriksa apakah varians residual dari model yang diperoleh sama penyebarannya (*homokedastisitas*). Pada Gambar IV.10 dibawah, dapat dilihat hubungan plot residual dengan *fitted value*. Residual tersebar secara acak dan tidak membentuk pola tertentu. Hal ini menunjukkan bahwa asumsi residual identik terpenuhi.



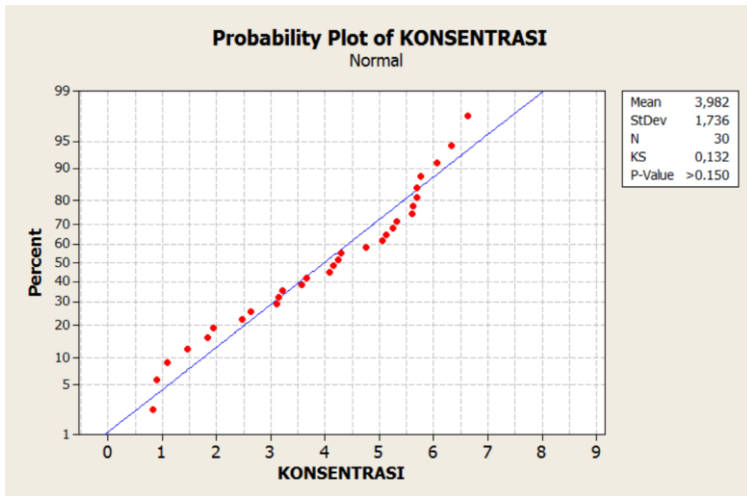
Gambar IV.10 Hubungan Residual dengan *Fitted Value* untuk Konsentrasi Gula Reduksi (Keluaran Uji Identik dari Minitab 16)

Uji independen bertujuan untuk mengetahui apakah ada dependensi antara residual pada pengamatan dengan waktu tertentu. Residual akan independen bila nilai *Autocorrelation Function* (ACF) berada pada interval $\pm \frac{2}{\sqrt{n}}$. Untuk model diatas dengan jumlah $n = 30$ residual, maka asumsi independen telah terpenuhi karena nilai ACF berada pada interval 0,365 seperti pada Gambar IV.11 dibawah.



Gambar IV.11 *Autocorrelation Function* untuk Konsentrasi Gula Reduksi

Uji distribusi normal dilakukan untuk mengamati penyimpangan model. Residual dikatakan telah mengikuti distribusi normal jika pada plot kenormalan residual, titik residual yang dihasilkan telah sesuai atau mendekati garis lurus yang ditentukan. Pada Gambar IV.12 dibawah menunjukkan hasil statistik Kolmogrov-Smirnov (KS) untuk uji distribusi normal. Dimana P_{value} menunjukkan nilai di atas 0,05 yang berarti tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada uji normalitas ini. Selain itu nilai statistik KS adalah 0,132 kurang dari nilai statistik Kolmogrov pada appendix Tabel A.10 sebesar 0,242 sehingga kenormalan residual telah mengikuti distribusi normal.

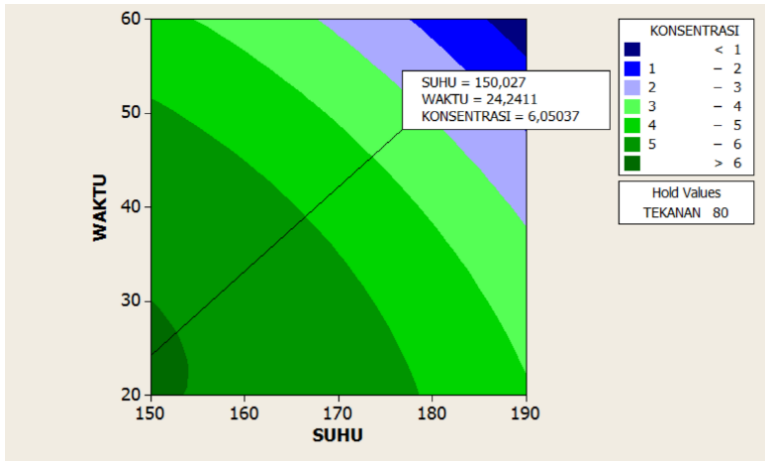


Gambar IV.12 Uji Kenormalan Residual Model *Response Surface*

Dari ketiga analisa diatas, dapat disimpulkan bahwa uji residual bersifat identik, independen dan berdistribusi normal telah terpenuhi.

IV.4.2 Analisis Karakteristik Permukaan Respon

Salah satu cara untuk menunjukkan model *respon surface* adalah membuat plot kontur respon (konsentrasi gula reduksi) dengan tiga faktor yang mempengaruhi respon yaitu fungsi tekanan, suhu dan waktu reaksi. Untuk menggambarkan hasil plot kontur, respon hanya dapat digambarkan dalam tiga dimensi, sehingga akan dipilih salah satu faktor sebagai patokan, yang merupakan bentuk penyederhanaan (simplifikasi). Sesuai hasil rancangan desain, dimana variabel tekanan mempunyai angka P_{value} paling besar yaitu 0,758 dibanding dua variabel lainnya sebesar 0,000 untuk suhu dan waktu, maka variabel tekanan akan digunakan sebagai acuan. Hasil *running* untuk program *response surface* menghasilkan dua gambar berupa grafik *contour* dan grafik *surface* yang ditunjukkan dalam Gambar IV.13 dan Gambar IV.14 berikut ini:

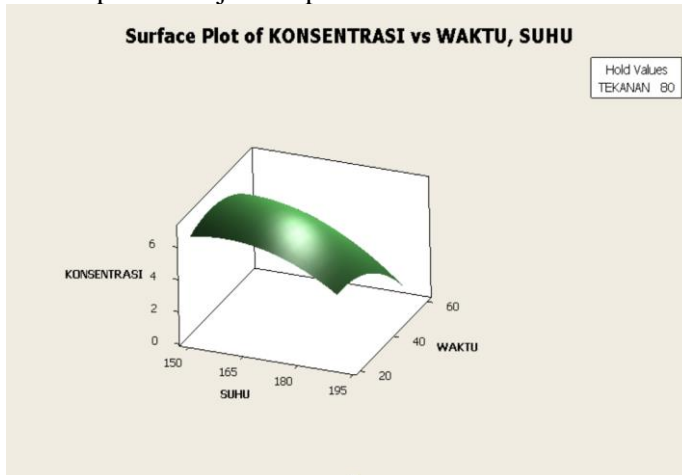


Gambar IV.13 Plot *Contour* Konsentrasi vs Waktu, Suhu pada Tekanan Tetap

Gambar IV.13 menunjukkan *plot contour* yang dihasilkan terdiri dari berbagai variasi warna. Dimana masing-masing variasi menunjukkan *range* besarnya respon konsentrasi yang dihasilkan. Kondisi paling maksimal untuk plot diatas berada di warna hijau tua dengan nilai konsentrasi diatas 6 g/L. *Range* warna inilah yang akan memberi garis besar petunjuk letak titik optimum variabel.

Untuk penentuan kombinasi level-level variabel proses yang dapat menghasilkan respon yang optimal, dilakukan dengan bantuan *plant flag* yang ada pada minitab melalui random di pusat kontur optimum. Berdasarkan Gambar IV.13 diatas, respon konsentrasi gula reduksi akan semakin besar bila berada di *range* waktu 20-30 menit dan suhu reaksi berkisar antara 150-153 °C. Dengan mengambil *range* suhu dan waktu reaksi pada level tersebut, maka akan diperoleh konsentrasi gula reduksi melebihi 6 g/L. dari beberapa kombinasi yang diperoleh, dapat ditentukan titik optimum dari masing masing faktor yaitu 150 °C untuk variabel suhu dan 24 menit untuk variabel waktu.

Penentuan kondisi optimum dari faktor diatas dibuktikan dengan bentuk kurva tiga dimensi yang membentuk puncak optimum seperti ditunjukkan pada Gambar IV.14 dibawah ini:



Gambar IV.14 Plot *Surface Response*

Plot surface menampilkan *plot contour* dalam bentuk tiga dimensi. Sama halnya dengan *plot contour*, terlihat pada gambar diatas bahwa konsentrasi gula reduksi akan semakin besar apabila waktu berada di antara level 20-30 menit sedangkan suhu berada antara 150–153 °C. Namun masih sulit mengetahui dengan jelas besarnya variabel independen dalam mengoptimalkan respon dengan plot permukaan respon. Hasil yang diperoleh berupa *range* yang cukup besar.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan analisa yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Hasil *yield* gula reduksi terbaik pada *pretreatment* air subkritis didapatkan pada variabel 80 bar, 150 °C dan 40 menit dengan *yield* 14,6 g gula reduksi/ 100 g sabut kelapa
2. Hasil hidrolisis enzimatik terbaik dilihat dari perolehan konsentrasi gula reduksi didapatkan pada variabel 100 bar, 190 °C dan 40 menit, diperoleh konsentrasi gula reduksi terbesar pada jam ke-16 dengan *yield* 9,91 g gula reduksi / 100 g sabut kelapa.
3. Total gula reduksi tertinggi didapatkan pada variabel 80 bar, 150 °C dan 40 menit dengan *yield* sebesar 23,29 g gula reduksi/ 100 g sabut kelapa.
4. Berdasarkan analisa variansi, diketahui suhu dan waktu adalah faktor yang memberikan pengaruh signifikan terhadap konsentrasi gula reduksi hasil *pretreatment* air subkritis dengan waktu sebagai faktor yang paling signifikan. Sedangkan, tekanan adalah faktor yang memberikan signifikansi tertinggi terhadap konsentrasi gula reduksi hasil hidrolisis enzimatik dan waktu merupakan faktor dengan signifikansi tertinggi terhadap total massa gula reduksi.
5. Berdasarkan hasil karakterisasi padatan hasil *pretreatment* air subkritis dengan analisa SEM menunjukkan bahwa struktur morfologi permukaan substrat berubah menjadi lebih berpori, terdapat retakan dan tidak teratur. Analisa FTIR menunjukkan adanya delignifikasi serta solubilisasi hemiselulosa dan selulosa setelah diberi *pretreatment*. Sedangkan analisa XRD dan

TGA menunjukkan meningkatnya nilai kristalinitas pada padatan yang telah diberi *pretreatment*.

V.2 Saran

1. Perlunya dilakukan analisa HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) untuk mengetahui konsentrasi monomer-monomer dari gula reduksi yang dihasilkan dan senyawa turunan furan yang merupakan hasil degradasi lanjutan dari gula reduksi.
2. Perlu adanya analisa kuantitatif yang lebih akurat untuk mengetahui komposisi selulosa, hemiselulosa dan lignin.
3. Perlunya meninjau ulang kondisi operasi proses hidrolisis enzimatis untuk menghasilkan gula reduksi yang lebih optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, N., Widjaja, A., Winardi, S. 2011. "Study of The Enzymatic Hydrolysis of Alkaline Pretreated Rice Strow Using Cellulase of Various Sources and Compositions". International Review of Chemical Engineering Vol. 3.N.2.
- Asgher, M., Ahmad, Z., and Iqbal, H.M.N. 2013. "Alkali and Enzymatic Delignification of Sugarcane Bagasse to Expose Cellulose Polymers for Saccharification and Bio-ethanol Production". Industrial Crops and Products 44:488-495.
- Astawan, Made. 2007. "Nata De Coco". Departemen Teknologi Pangan dan Gizi, IPB.
- Bergas dan Yorgy. 2015. "Pembuatan Gula Reduksi dari Sabut Kelapa dengan Metode Pretreatment Air Subkritis Menggunakan Gas Penekan N₂". Departemen Teknik Kimia, ITS.
- British Petroleum Energy Outlook Team. 2015. "BP Energy Outlook ". www.bp.com.
- Cantero, D.A., Vaquerizo, L., Mato, F., Bermejo, M.D., Cocero, M.J. 2015e. "Energetic Approach of Biomass Hydrolysis in Supercritical Water". Bioresource Technology.
- Ciftci, D., dan Saldana, M. D. A. 2015. "Hydrolysis of Sweet Blue Lupin Hull Using Subcritical Water Technology". Bioresource Technology.
- Datta dan Rathin. 1981. " Acidogenic Fermentation of Lignocellulose-Acid Yield and Conversion of Components". Biotechnology and Bioengineering, Vol. 23.
- Direktorat Industri Agro dan Kimia Team. 2009. "Road Map Industri Pengolahan Kelapa". Departemen Perindustrian, Jakarta.
- Fengel, D., Wegener, G. 1985. "Kayu: Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-Reaksi". Gadjah Mada University Press, Indonesian Edition, 124-149.

- Fredi dan Kurniawan. 2015. "Pembuatan Gula Reduksi dari Sabut Kelapa dengan Metode *Pretreatment* Air Subkritis Menggunakan Gas Penekan CO₂". Departemen Teknik Kimia, ITS.
- Girio, F.M., Fonseca, C., Carvalheiro, F., Duarte, L.C., Marques, S., Lukasik, R.B. 2010. "Hemicellulose for Fuel Ethanol: A Review". *Bioresource Technology*, Vol. 101.
- Hongdan, Z., Shaohua, X., dan Shubin, W. 2013. "Enhancement of Enzymatic Saccharification of Sugarcane Bagasse by Liquid Hot Water Pretreatment". *Bioresource Technology*.
- Howard, R.L., Abotsi, E., Jansen van Rensburg, E.L., dan Howard, S. 2003. "Lignocellulose Biotechnology: Issues of Bioconversion and Enzyme Production". *African Journal of Biotechnology*, Vol. 12.
- Hsu, T.C., Guo, G.L., Chen W.H., dan Hwang, W.S. 2010. "Effect of Dilute Acid Pretreatment of Rice Straw on Structural Properties and Enzymatic Hydrolysis". *Bioresource Technology*, Vol. 101.
- Ju, Y.H., Huynh, L.H., Kasim, N.S., Guo, T.J., Wang, J.H. 2011. "Analysis of Soluble and Insoluble Fraction of Alkali and Subcritical Water Treated Sugarcane Bagasse". *Carbohydrate Polymer*, Vol. 83.
- Junianti, Fitri. 2016. "Produksi Hidrogen dari Sabut Kelapa Melalui Pretreatment Air Subkritis dan Hidrolisis Enzimatis". Departemen Teknik Kimia, ITS.
- Khuwijitjaru, P., Watsanit, K., dan Adachi, S. 2012. "Carbohydrate Content and Composition of Product From Subcritical Water Treatment of Coconut Meal". *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*.
- King, J.W., Srinivas, K., Guevara, O., Lu, Y.W., Zhang, D., Wang, Y.J. 2012. "Reactive High Pressure Carbonated Water Pretreatment Prior to Enzymatic Saccharification of Biomass Substrate". *The Journal of Supercritical Fluids*, Vol. 66.

- Kumar, R., dan Wyman, C.E. 2009. "Cellulase Adsorption and Relationship to Feature of Corn Stover Solid Produce by Leading Pretreatment". *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 103.
- Koullas, D.P., Christakopoulos, P.F., Kekos, D., Macris, B.J., Koukios, E.G. 1990. "Effect of Cellulose Crystallinity on The Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulosics by *Fusarium Oxysporum* Cellulases". *Cellulose Chem. Technology*. 24.
- Mansfield, S. D., Mooney, C., Saddler, J. N., 1999, "Substrate and Enzyme Characteristics that Limit Cellulose Hydrolysis", *Biotechnology and Bioengineering* .
- Miller, G.L. 1959. "Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar". *Analytical Chemistry*, 31 (3).
- Mohan, M., Banerjee, T., dan Goud, V. V. 2015. "Hydrolysis of Bamboo Biomass by Subcritical Water Treatment". *Bioresource Technology*.
- Octavia, S., Tatang, H.S., Ronny, P., I.D.G. Arsa P. 2011. "Review: Pengolahan Awal Lignoselulosa Menggunakan Amoniak untuk Meningkatkan Perolehan Gula Fermentasi". Yogyakarta: ISSN 1693-4393.
- Öztürk Ilker, I., Irmak, S., Hesenov, A., & Erbatur, O. 2010. "Hydrolysis of Kenaf (*Hibiscus Cannabinus* L.) Stems by Catalytical Thermal Treatment in Subcritical Water". *Biomass and Bioenergy*.
- Park, S., Baker, J.O., Himmel, M.E., Parilla, P.A., Johnson, D.K. 2010. "Cellulose Crystallinity Index: Measurement Techniques and Their Impact on Interpreting Cellulase Performance". *Biotechnology for Biofuels*, 3, 10.
- Palungkun, R. 2004. "Aneka Produk Olahan Kelapa". Jakarta: Penebar Swadaya.
- Peterson, A.A., Vogel, F., Lachance, R.P., Fröling, M., Antal, M.J., Tester, J.W. 2008. "Thermochemical Biofuel Production in Hydrothermal Media: A review of Sub- and

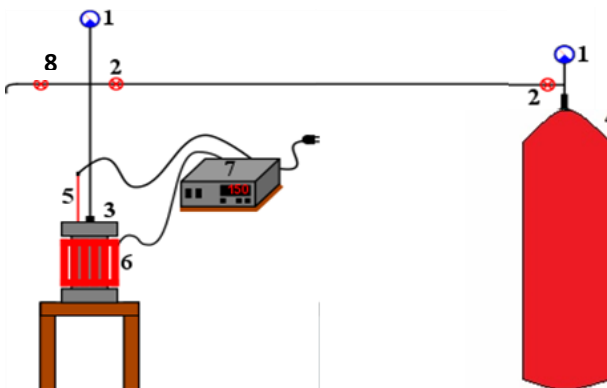
- Supercritical Water Technologies”. *Energy Environ. Sci.*,1, 32-65.
- Prado, J.M., Luis, A.F.R., Tania, F.C., Mauricio, A.R., Fransisco, M.F., M.Angela. A.M. 2014a. “Hydrolysis of Sugarcane Bagasse in Subcritical Water”. *The Journal of Supercritical Fluids*, Vol. 86.
- Prado, J.M., Luis, A.F.R., Tania, F.C., Mauricio, A.R., Fransisco, M.F., M.Angela. A.M. 2014b. “Obtaining Sugars from Coconut Husk, Defatted Grape Seed, and Pressed Palm Fiber by Hydrolysis with Subcritical Water”. *The Journal of Supercritical Fluids*, Vol. 89.
- Prado, J. M., Lachos-Perez, D., Forster-Carneiro, T., & Rostagno, M. A. 2016. “Sub- and Supercritical Water Hydrolysis of Agricultural and Food Industry Residues for The Production of Fermentable Sugars: A Review”. *Food and Bioproducts Processing*.
- Ranggina, Dian. 2015. “Produksi Hidrogen dari Sabut Kelapa Melalui Hidrolisis dengan Metode Air Subkritis”. Departemen Teknik Kimia, ITS.
- Saha, B.C., Iten, L.B., Cotta, M.A., Wu, Y.V. 2005. “Dilute Acid Pretreatment, Enzymatic Saccharification, and Fermentation of Rice Hulls to Ethanol”. *Biotechnology Progress*, Vol. 21.
- Sánchez, Ó. J., dan Cardona, C. A. 2008. “Review: Trends of Biotechnological Production of Fuel Ethanol from Different Feedstocks”. *Bioresource Technology*, Vol. 99.
- Sanchez-Ramirez, J., Martinez-Hernandez, J., Segura-Ceniceros, P., Lopez, G., Saade, H., Medina-Morales, M.A., Ramos-Gonzalez, R., Aguilar, C.N., Ilyina, A. 2016. “Cellulases Immobilization on Chitosan-Coated Magnetic Nanoparticles: Application for Agave Atrovirens Lignocellulosic Biomass Hydrolysis”. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Sangian, H. F., Ranggina, D., Ginting, G. M., Purba, A. A., Gunawan, S., Widjaja, A. 2015. “Study of The Preparation

- of Sugar From High-lignin Lignocellulose Applying Subcritical Water and Enzymatic Hydrolysis: Synthesis and Consumable Cost Evaluation". Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry.
- Setyaningsih, Dwi dan Nababan, Dody Alexander. 2013. "Enzymatic Hydrolysis to Increase Production Bioethanol from Macroalgae". Institut Pertanian Bogor.
- Sharma, S.K., Kalra, K.L., dan Grewal, H.S. 2002. "Enzymatic Saccharification of Pretreated Sunflower Stalks". Biomass and Bioenergy, Vol. 23.
- Sjöström, E. 1998. "Kimia Kayu, Dasar-Dasar dan Penggunaan". Gadjah Mada Academic Press, Edisi Kedua, 68-79.
- Sun, Y., dan Cheng, J.J. 2005. "Dilute Acid Pretreatment of Rye Straw and Bermudagrass for Ethanol Production". Bioresource Technology, Vol.96.
- Toor, S.S., Rosendahl, L., Rudolf, A.A. 2011. "Review Of Subcritical Water Technologies". Energy, Vol. 36.
- Tortora, J.G., Funke, R.B., Case, L.C. 2007. "Microbiology an Introduction. 9th ed". San Fransisco: Pearson Benjamin Cummings.
- Wahjudi, Didik. 1999. "Aplikasi Metode Response Surface Untuk Optimasi Kualitas Warna Minyak Goreng". Center for Quality Improvement Fakultas Teknik Industri Universitas Kristen Petra.
- Weiqi, W., Shubin, W., & Ligu, L. 2013. "Combination of Liquid Hot Water Pretreatment and Wet Disk Milling to Improve The Efficiency of The Enzymatic Hydrolysis of Eucalyptus". Bioresource Technology, 128.
- Wen, D., Jiang, H., Zhang, K. 2009. "Supercritical Fluids Technology for Clean Biofuel Production". Progress in Natural Science.
- Widjaja, Arief., Nadiem Anwar., dan Sugeng Winardi. 2009. "Produksi Enzim Selulase untuk Hidrolisis Jerami Padi". Seminar Nasional Kimia.

- Xu, F., Yu, J., Tesso, T., Dowell, F., & Wang, D. (2013). Qualitative and Quantitative Analysis of Lignocellulosic Biomass Using Infrared Techniques: A Mini-Review. *Applied Energy*.
- Yu, Q., Zhuang, X., Yuan, Z., Qi, W., Wang, W., Wang, Q., Tan, X. 2013. "Pretreatment of Sugarcane Bagasse with Liquid Hot Water and Aqueous Ammonia". *Bioresource Technology* 144.
- Zhang, H., Wu, S. 2013. "Subcritical CO₂ Pretreatment of Sugarcane Bagasse and Its Enzymatic Hydrolysis for Sugar Production". *Bioresource Technology*, Vol. 149.
- Zhao, Y., Lu, W.J., Wang, H.T., Yang, J.L. 2012. "Fermentable Hexose Production from Corn Stalks and Water Straw with Combined Supercritical and Subcritical Hydrothermal Technology". *Biosource Technology*, Vol. 100.
- Zhu, L., O'Dwyer, J.P., Chang, V.S., dan Granda, C.B. 2008. "Structure Features Affecting Biomass Enzymatic Digestibility". *Bioresource Technology*, Vol. 99.

APPENDIKS
PROSEDUR KERJA DAN HASIL PERHITUNGAN
ANALISA

A. Skema Rangkaian Alat untuk Hidrolisis Air Subkritis



Keterangan:

1= *Pressure indicator*

2, 8= *Valve tekanan*

3= *Reaktor subkritis*

4= *Tabung gas N₂*

5= *Termokopel*

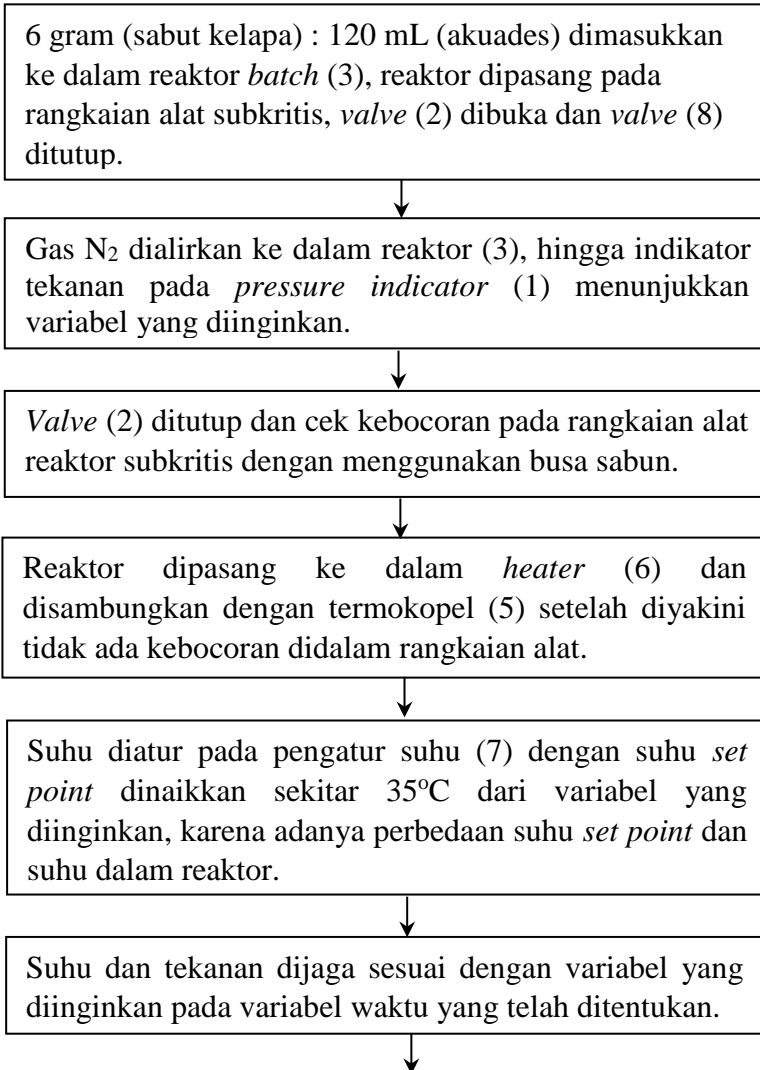
6= *Elemen heater*

7= *Pembaca dan
pengatur suhu*

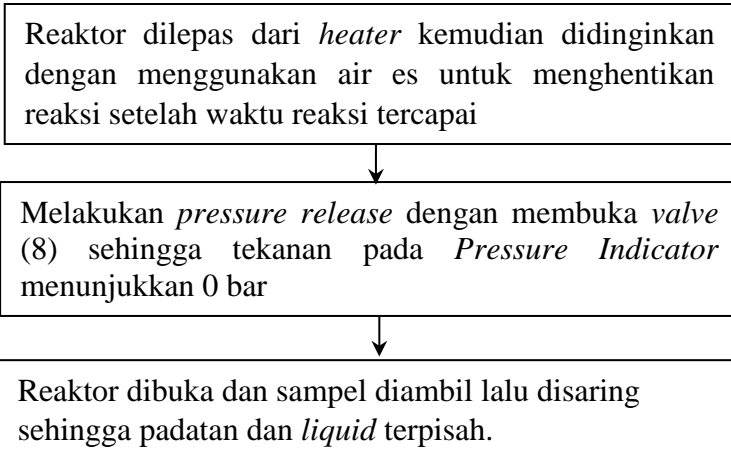
Gambar A.1 Rangkaian Peralatan Hidrolisis Air Subkritis

Adapun prosedur pemakaian rangkaian reaktor air subkritis yaitu sebagai berikut:

A.1 Pemakaian Reaktor untuk Hidrolisis Air Subkritis



Lanjutan A.1 Pemakaian Reaktor untuk Hidrolisis Air Subkritis



B. Analisa Konsentrasi dan Yield Gula Reduksi dari Hasil *Pretreatment* Air Subkritis dengan Analisa DNS

B.1 Pengukuran Kurva Standar Glukosa

Massa glukosa = 0,367 gram

Volume buffer sitrat pH 5,5 = 100 mL

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi glukosa awal} &= \frac{\text{massa glukosa}}{\text{volume buffer sitrat pH 5,5}} \\ &= \frac{0,367 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} = 3,67 \text{ gram/L} \end{aligned}$$

Misalkan pada pengenceran 1:4 (glukosa : buffer sitrat)

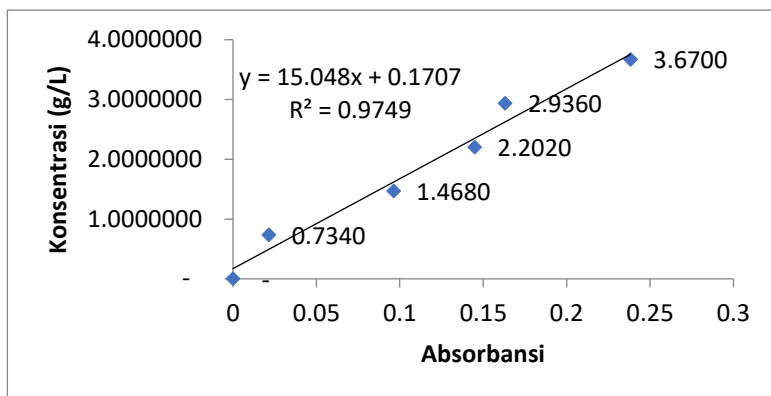
$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi ditabung reaksi} &= \frac{\text{konsentrasi glukosa awal} \times \text{larutan glukosa}}{\text{volume total}} \\ &= \frac{3,67 \frac{\text{gram}}{\text{L}} \times 1 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} = 0,734 \text{ gram/L} \end{aligned}$$

Untuk konsentrasi yang lain, perhitungan dapat dilakukan dengan langkah yang sama. Kemudian diplot antara konsentrasi

gula reduksi vs absorbansi untuk tiap pengenceran, lalu dilakukan regresi linier dan didapat persamaan $y = 15,048x$ dengan sumbu x sebagai absorbansi dan sumbu y sebagai konsentrasi larutan glukosa (g/L).

Tabel A.1 Perhitungan Kurva Standar Glukosa untuk Menguji Konsentrasi Gula Reduksi

Larutan Glukosa (mL)	Buffer Sitrat pH 5 (mL)	Diambil (mL)	Aquades (mL)	DNS (mL)	Volume akhir (mL)	Konsentrasi (g/L)	Absorbansi			
							A1	A2	A3	Rata2
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
					(3+4+5)	(1 x Slope Konsentrasi Glukosa/6)				
0	5	0,2	1,8	3	5	0	0	0	0	0
1	4	0,2	1,8	3	5	0,7340	0,0210	0,0210	0,0220	0,0214
2	3	0,2	1,8	3	5	1,4680	0,0960	0,0960	0,0970	0,0962
3	2	0,2	1,8	3	5	2,2020	0,1440	0,1450	0,1450	0,1448
4	1	0,2	1,8	3	5	2,9360	0,1600	0,1600	0,1750	0,1630
5	0	0,2	1,8	3	5	3,6700	0,2370	0,2390	0,2390	0,2382



Gambar A.2 Kurva Standar Glukosa untuk Analisa Gula Reduksi

Slope yang didapatkan pada Gambar A.2 yaitu 15,048 kemudian digunakan untuk menghitung konsentrasi gula reduksi pada *pretreatment* SCW.

Tabel A.2 Massa dan Yield Gula Reduksi dari Pretreatment SCW

Variabel			Massa SCW	Volume SCW	Absorbansi				Konsentrasi Gula Reduksi	Massa Gula Reduksi	Yield Gula Reduksi	Rata-rata Yield Gula Reduksi
t (menit)	P (bar)	T (°C)	(gram)	(mL)	A1	A2	(g/g sabut kelapa)	Rata-rata	(g/L)	(gr)/1000	(g/g sabut kelapa)	(g/g sabut kelapa)
Perhitungan									$(9 \times \text{slope})^*$	$(10 \times 5)^*$	$(11/4)^*$	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
20	60	150	6.0000	120	0.402	0.403	0.403	0.40267	6.0593	0.7271	0.1212	0.1197
			6.0000	120	0.3910	0.3930	0.3950	0.3930	5.9139	0.7097	0.1183	
		170	6.0000	120	0.3770	0.3780	0.3800	0.3783	5.6932	0.6832	0.1139	0.0985
			6.0000	120	0.2750	0.2760	0.2780	0.2763	4.1583	0.4990	0.0832	
		190	6.0000	120	0.2600	0.2590	0.2590	0.2593	3.9024	0.4683	0.0780	0.0720
			6.0000	120	0.2190	0.2190	0.2200	0.2193	3.3005	0.3961	0.0660	
	80	150	6.0000	120	0.3810	0.3820	0.3840	0.3823	5.7534	0.6904	0.1151	0.1100
			6.0000	120	0.3470	0.3480	0.3500	0.3483	5.2417	0.6290	0.1048	
		170	6.0000	120	0.2860	0.2880	0.2890	0.2877	4.3288	0.5195	0.0866	0.1119
			6.0000	120	0.4530	0.4570	0.4580	0.4560	6.8619	0.8234	0.1372	
		190	6.0000	120	0.3160	0.3160	0.3170	0.3163	4.7602	0.5712	0.0952	0.0832
			6.0000	120	0.2380	0.2360	0.2360	0.2367	3.5614	0.4274	0.0712	
	100	150	6.0000	120	0.4290	0.4330	0.4350	0.4323	6.5058	0.7807	0.1301	0.1188
		170	6.0000	120	0.3560	0.3570	0.3580	0.3570	5.3721	0.6447	0.1074	
		170	6.0000	120	0.4020	0.4030	0.4050	0.4033	6.0694	0.7283	0.1214	0.1167

20	100	170	6.0000	120	0.3720	0.3720	0.3730	0.3723	5.6029	0.6723	0.1121	0.1167
		190	6.0000	120	0.1820	0.1820	0.1830	0.1823	2.7438	0.3293	0.0549	0.0840
40	60	150	6.0000	120	0.3760	0.3760	0.3760	0.3760	5.6580	0.6790	0.1132	
			6.0000	120	0.3500	0.3520	0.3580	0.3533	5.3170	0.6380	0.1063	0.1391
		170	6.0000	120	0.5690	0.5710	0.5730	0.5710	8.5924	1.0311	0.1718	
			6.0000	120	0.3900	0.3900	0.3910	0.3903	5.8737	0.7048	0.1175	0.1230
		190	6.0000	120	0.4220	0.4280	0.4310	0.4270	6.4255	0.7711	0.1285	
			6.0000	120	0.2130	0.2130	0.2140	0.2133	3.2102	0.3852	0.0642	0.0632
	80	150	6.0000	120	0.2060	0.2060	0.2070	0.2063	3.1049	0.3726	0.0621	
			6.0000	120	0.5200	0.5210	0.5210	0.5207	7.8350	0.9402	0.1567	0.1460
		170	6.0000	120	0.4490	0.4490	0.4500	0.4493	6.7616	0.8114	0.1352	
			6.0000	120	0.2860	0.2790	0.2790	0.2813	4.2335	0.5080	0.0847	0.1057
		190	6.0000	120	0.4210	0.4200	0.4220	0.4210	6.3352	0.7602	0.1267	
			6.0000	120	0.1910	0.1910	0.1910	0.1910	2.8742	0.3449	0.0575	0.0549
	100	150	6.0000	120	0.1730	0.1730	0.1750	0.1737	2.6133	0.3136	0.0523	
			6.0000	120	0.3340	0.3370	0.3370	0.3360	5.0561	0.6067	0.1011	0.1169
		170	6.0000	120	0.4400	0.4410	0.4420	0.4410	6.6362	0.7963	0.1327	
			6.0015	120	0.1650	0.1650	0.1650	0.1650	2.4829	0.2980	0.0496	0.0545
		190	6.0019	120	0.1960	0.1970	0.1990	0.1973	2.9695	0.3563	0.0594	
			6.0018	120	0.0590	0.0590	0.0590	0.0590	0.8878	0.1065	0.0178	0.0234
60	60	150	6.0015	120	0.0960	0.0970	0.0970	0.0967	1.4546	0.1746	0.0291	
			6.0043	120	0.3390	0.3470	0.3480	0.3447	5.1865	0.6224	0.1037	0.0928
		170	6.0025	120	0.2750	0.2710	0.2710	0.2723	4.0981	0.4918	0.0819	
			6.0004	120	0.1210	0.1210	0.1220	0.1213	1.8258	0.2191	0.0365	0.0429
		190	6.0002	120	0.1640	0.1630	0.1640	0.1637	2.4629	0.2955	0.0493	
			6.0002	120	0.1640	0.1630	0.1640	0.1637	2.4629	0.2955	0.0493	

60		190	6.0023	120	0.1040	0.1050	0.1040	0.1043	1.5700	0.1884	0.0314	0.0237
			6.0023	120	0.0530	0.0530	0.0530	0.0530	0.7975	0.0957	0.0159	
	80	150	6.0054	120	0.2850	0.2850	0.2850	0.2850	4.2887	0.5146	0.0857	0.0836
			6.0053	120	0.2710	0.2710	0.2710	0.2710	4.0780	0.4894	0.0815	
		170	6.0014	120	0.1900	0.1890	0.1890	0.1893	2.8491	0.3419	0.0570	0.0428
			6.0065	120	0.0950	0.0950	0.0950	0.0950	1.4296	0.1715	0.0286	
		190	6.0037	120	0.0550	0.0550	0.0550	0.0550	0.8276	0.0993	0.0165	0.0192
			6.0042	120	0.0710	0.0730	0.0740	0.0727	1.0935	0.1312	0.0219	
	100	150	6.0011	120	0.2640	0.2640	0.2640	0.2640	3.9727	0.4767	0.0794	0.0676
			6.0060	120	0.1850	0.1850	0.1860	0.1853	2.7889	0.3347	0.0557	
		170	6.0067	120	0.1750	0.1750	0.1750	0.1750	2.6334	0.3160	0.0526	0.0457
			6.0012	120	0.1290	0.1290	0.1290	0.1290	1.9412	0.2329	0.0388	
		190	6.0061	120	0.0640	0.0640	0.0640	0.0640	0.9631	0.1156	0.0192	0.0193
			6.0060	120	0.0640	0.0650	0.0640	0.0643	0.9681	0.1162	0.0193	

C. Perhitungan Kurva Standar Glukosa dan Xilosa untuk Mengukur Aktivitas Enzim

C.1 Perhitungan Kurva Standar Glukosa

Massa glukosa	= 0,367 gram
Volume buffer sitrat pH 5,5	= 100 ml
BM glukosa	= 180 gram/mol
Mol glukosa	= massa glukosa/BM
	= 0,367 gram/ 180 g/mol
	= 2,03889 x 10 ⁻³ mol
	= 2038,89μmol
Konsentrasi glukosa awal	= mol glukosa/ volume
	buffer sitrat pH 5,5
	= 2038,89μmol/100 ml
	= 20,3889μmol/ml

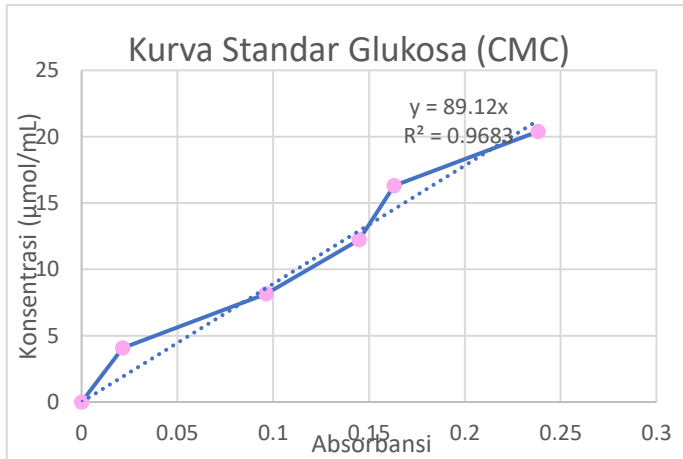
Misalkan pada pengenceran 1:4 (glukosa : buffer sitrat)

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi di tabung reaksi} &= \\
 \frac{\text{konsentrasi glukosa} \times \text{larutan glukosa}}{\text{volume total}} &= \\
 &= \frac{20,3889 \frac{\mu\text{mol}}{\text{mL}} \times 1 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \\
 &= 4,0778 \mu\text{mol/ml}
 \end{aligned}$$

Untuk konsentrasi yang lain, perhitungan dapat dilakukan dengan langkah yang sama. Berikut tabel perhitungan untuk kurva standar glukosa:

Tabel A.3 Perhitungan Kurva Standar Glukosa untuk Perhitungan Aktivitas Enzim Selulase

Glukosa (mL)	Buffer (mL)	Diambil (mL)	CMC (mL)	V total (mL)	Konsentrasi	Absorbansi			
					μmol/ml	A1	A2	A3	Rata2
0	5	0.2	1.8	5	0	0	0	0	0
1	4	0.2	1.8	5	4.0778	0,0210	0,0210	0,0220	0.0214
2	3	0.2	1.8	5	8.1556	0,0960	0,0960	0,0970	0.0962
3	2	0.2	1.8	5	12.2333	0,1440	0,1450	0,1450	0.1448
4	1	0.2	1.8	5	16.3111	0,1600	0,1600	0,1750	0.1630
5	0	0.2	1.8	5	20.3889	0,2370	0,2390	0,2390	0.2382



Gambar A.3 Kurva Standar Glukosa untuk Perhitungan Aktivitas Enzim Selulase

Kemudian diplot antara konsentrasi glukosa vs absorbansi untuk tiap pengenceran, lalu dilakukan regresi linier dan didapat persamaan $y = 89,12x$ dengan y sebagai konsentrasi glukosa ($\mu\text{mol/ml}$) dan x sebagai absorbansi.

C.2 Perhitungan Kurva Standar Xilosa

Massa xilosa	= 0,3704 gram
Volume buffer sitrat pH 5,5	= 100 ml
BM xilosa	= 150 gram/mol
Mol xilosa	= massa xilosa/BM xilosa
	= 0,3704 gram / 150 gram/mol
	= 0,0025 mol
	= 2469 μmol
Konsentrasi xilosa awal	= mol xilosa/ volume buffer sitrat
	pH 5,5
	= 2469 $\mu\text{mol}/100 \text{ ml}$
	= 24,69 $\mu\text{mol/ml}$
Misalkan pada pengenceran 1:4 (xilosa : buffer sitrat)	

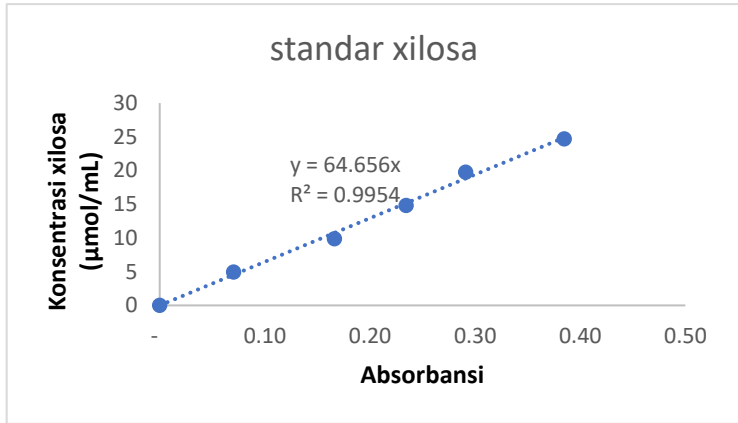
$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi di tabung reaksi} &= \frac{\text{konsentrasi xilosa awal} \times \text{larutan xilosa}}{\text{volume total}} \\
 &= \frac{24,69 \mu\text{mol/ml} \times 1 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \\
 &= 4,9387 \mu\text{mol/ml}
 \end{aligned}$$

Untuk konsentrasi yang lain, perhitungan dapat dilakukan dengan langkah yang sama. Berikut tabel perhitungan untuk kurva standar xilosa.

Tabel A.4 Perhitungan Kurva Standar Xilosa untuk Perhitungan Aktivitas Enzim Xilanase

Larutan Xilosa (mL)	Buffer (mL)	Diambil (mL)	Xilan (mL)	V Total (mL)	Konsentrasi	Absorbansi (Blanko =0:5)			
						Sampel 1			
					$\mu\text{mol/ml}$	A1	A2	A3	Rata2
0	5	0.2	1.8	5	0	0	0	0	0
1	4	0.2	1.8	5	4.9387	0.0680	0.0710	0.0720	0.0703
2	3	0.2	1.8	5	9.8773	0.1650	0.1660	0.1680	0.1663
3	2	0.2	1.8	5	14.8160	0.2340	0.2340	0.2350	0.2343
4	1	0.2	1.8	5	19.7547	0.2900	0.2900	0.2930	0.2910
5	0	0.2	1.8	5	24.6933	0.3830	0.3850	0.3870	0.3850

Kemudian diplot antara konsentrasi xilosa vs absorbansi untuk tiap pengenceran, lalu dilakukan regresi linier dan didapat persamaan $y = 64,656x$ dengan y sebagai konsentrasi xilosa ($\mu\text{mol/ml}$) dan x sebagai absorbansi.



Gambar A.4 Kurva Standar Xilosa untuk Perhitungan Aktivitas Enzim Xilanase

D. Perhitungan Enzim

D.1 Pengukuran aktivitas enzim selulase dari *aspergillus niger*:

Pengukuran aktivitas enzim selulase

$$\begin{aligned}
 \text{Absorbansi larutan sebelum koreksi (A1)} &= 0,865 \\
 \text{Absorbansi larutan koreksi (A2)} &= 0,646 \\
 \text{Absorbansi larutan setelah koreksi (A)} &= A1 - A2 = 0,219
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi glukosa} &= A \times \text{slope kurva standar glukosa} \\
 &= 0,219 \times 89,12 \\
 &= 19,5173 \mu\text{mol/ml}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas enzim selulase (U/ml)} &= \frac{\text{Konsentrasi glukosa}}{\text{Waktu inkubasi}} \\
 &= \frac{19,5173 \mu\text{mol}}{10 \text{ menit}} \\
 &= 1,952 \text{ U / volume enzim}
 \end{aligned}$$

D.2. Pengukuran aktivitas enzim xilanase

$$\text{Absorbansi larutan sebelum koreksi (A1)} = 2,220$$

$$\begin{aligned}
\text{Absorbansi larutan koreksi (A2)} &= 1,418 \\
\text{Absorbansi larutan setelah koreksi (A)} &= A1-A2= 0,802 \\
\text{Konsentrasi xilosa} &= A \times \text{slope kurva} \\
&\quad \text{standar xilosa} \\
&= 0,802 \times 64,656 \\
&= 51,8541 \mu\text{mol/ml} \\
\text{Aktivitas enzim xilanase (U/ml)} &= \text{Konsentrasi xilosa/} \\
&\quad \text{waktu inkubasi} \\
&= 51,8541 \mu\text{mol} / 10 \\
&\quad \text{menit} \\
&= 5,185 \text{ U/ml}
\end{aligned}$$

D.3 Perhitungan Kebutuhan Enzim

Dari hasil perhitungan aktivitas enzim ini selanjutnya dilakukan perhitungan untuk kebutuhan enzim campuran selulase dan xilanase. Konsentrasi enzim selulase dan xilanase yang digunakan dalam hidrolisis ini masing-masing 18,6 U/ 1 gram sampel. Berikut perhitungan untuk mendapatkan kebutuhan enzim campuran:

$$\begin{aligned}
\text{Kebutuhan Enzim Campuran} &= \text{Kebutuhan enzim selulase} + \\
&\quad \text{kebutuhan enzim} \\
&\quad \text{xilanase} \\
&= \frac{18,6 \text{ U}}{1,952 \text{ U/mL}} + \frac{18,6 \text{ U}}{5,185 \text{ U/mL}} \\
&= 9,530 \text{ mL} + 3,587 \text{ mL} = \\
&\quad 13,117 \text{ mL}
\end{aligned}$$

E. Perhitungan Gula Reduksi Hidrolisis Enzimatik

Tabel A.5 Konsentrasi, Massa dan *Yield* Gula Reduksi Hasil Hidrolisis Enzimatik pada Waktu 60 Menit

Jam Ke-	VARIABEL											
	<i>Untreated</i>						SCW 60 bar & 150 °C					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/1000	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/ 1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.027	30	0.131	1.971	0.059	0.058	1.027	30	0.112	1.680	0.050	0.049
8	1.027	30	0.138	2.077	0.062	0.061	1.027	30	0.113	1.700	0.051	0.050
12	1.027	30	0.099	1.490	0.045	0.044	1.027	30	0.090	1.359	0.041	0.040
16	1.027	30	0.108	1.625	0.049	0.047	1.027	30	0.136	2.047	0.061	0.060
20	1.027	30	0.137	2.062	0.062	0.060	1.027	30	0.123	1.846	0.055	0.054
24	1.027	30	0.1395	2.099	0.063	0.061	1.027	30	0.087	1.304	0.039	0.038

Keterangan:

MH = Massa Awal Hidrolisis Enzimatik

VH = Volume Hidrolisis Enzimatik

A = Absorbansi

K = Konsentrasi Gula Reduksi

MG = Massa Gula Reduksi

Y = Yield

Slope = Slope pada kurva standar Glukosa (D.1)

Jam Ke-	Variabel																	
	SCW 60 bar & 150 °C (duplo)						SCW 60 bar & 170 °C						SCW 60 bar & 170 °C (duplo)					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/ 1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/ 1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.027	30	0.112	1.680	0.050	0.049	1.027	30	0.115	1.726	0.052	0.050	1.027	30	0.114	1.720	0.052	0.050
8	1.027	30	0.093	1.399	0.042	0.041	1.027	30	0.108	1.630	0.049	0.048	1.027	30	0.096	1.440	0.043	0.042
12	1.027	30	0.083	1.249	0.037	0.036	1.027	30	0.082	1.229	0.037	0.036	1.027	30	0.079	1.184	0.036	0.035
16	1.027	30	0.161	2.418	0.073	0.071	1.027	30	0.112	1.685	0.051	0.049	1.027	30	0.112	1.680	0.050	0.049
20	1.027	30	0.110	1.650	0.050	0.048	1.027	30	0.122	1.831	0.055	0.053	1.027	30	0.099	1.490	0.045	0.044
24	1.027	30	0.039	0.582	0.017	0.017	1.027	30	0.104	1.570	0.047	0.046	1.027	30	0.087	1.309	0.039	0.038

Jam Ke-	Variabel																	
	SCW 60 bar & 190 °C						SCW 60 bar & 190 °C (duplo)						SCW 80 bar & 150 °C					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/ 1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/ 1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.027	30	0.162	2.443	0.073	0.071	1.019	30	0.118	1.781	0.053	0.052	1.0321	30	0.109	1.635	0.049	0.048
8	1.027	30	0.114	1.715	0.051	0.050	1.019	30	0.110	1.655	0.050	0.049	1.0321	30	0.125	1.881	0.056	0.055
12	1.027	30	0.075	1.124	0.034	0.033	1.019	30	0.129	1.946	0.058	0.057	1.0321	30	0.085	1.274	0.038	0.037
16	1.027	30	0.123	1.851	0.056	0.054	1.019	30	0.131	1.971	0.059	0.058	1.0321	30	0.116	1.746	0.052	0.051
20	1.027	30	0.110	1.655	0.050	0.048	1.019	30	0.129	1.936	0.058	0.057	1.0321	30	0.113	1.695	0.051	0.049
24	1.027	30	0.118	1.776	0.053	0.052	1.019	30	0.161	2.423	0.073	0.071	1.0321	30	0.102	1.540	0.046	0.045

Jam Ke-	Variabel																	
	SCW 80 bar & 150 °C (duplo)						SCW 80 bar & 170 °C						SCW 80 bar & 170 °C (duplo)					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/ 1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/ 1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.1908	30	0.137	2.067	0.062	0.052	1.0321	30	0.121	1.816	0.054	0.053	1.1908	30	0.184	2.764	0.083	0.070
8	1.1908	30	0.125	1.876	0.056	0.047	1.0321	30	0.123	1.846	0.055	0.054	1.1908	30	0.179	2.699	0.081	0.068
12	1.1908	30	0.067	1.003	0.030	0.025	1.0321	30	0.113	1.705	0.051	0.050	1.1908	30	0.174	2.623	0.079	0.066
16	1.1908	30	0.114	1.715	0.051	0.043	1.0321	30	0.151	2.267	0.068	0.066	1.1908	30	0.174	2.613	0.078	0.066
20	1.1908	30	0.088	1.329	0.040	0.033	1.0321	30	0.178	2.674	0.080	0.078	1.1908	30	0.154	2.312	0.069	0.058
24	1.1908	30	0.107	1.615	0.048	0.041	1.0321	30	0.173	2.603	0.078	0.076	1.1908	30	0.168	2.523	0.076	0.064

Jam Ke-	Variabel																	
	SCW 80 bar & 190 °C						SCW 80 bar & 190 °C (duplo)						SCW 100 bar & 150 °C					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/ 1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/ 1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.0821	30	0.163	2.458	0.074	0.068	1.019	30	0.171	2.568	0.077	0.076	1.014	30	0.171	2.573	0.077	0.076
8	1.0821	30	0.122	1.836	0.055	0.051	1.019	30	0.144	2.167	0.065	0.064	1.014	30	0.171	2.573	0.077	0.076
12	1.0821	30	0.131	1.971	0.059	0.055	1.019	30	0.168	2.528	0.076	0.074	1.014	30	0.146	2.197	0.066	0.065
16	1.0821	30	0.159	2.388	0.072	0.066	1.019	30	0.165	2.483	0.074	0.073	1.014	30	0.159	2.393	0.072	0.071
20	1.0821	30	0.141	2.117	0.064	0.059	1.019	30	0.163	2.458	0.074	0.072	1.014	30	0.184	2.764	0.083	0.082
24	1.0821	30	0.165	2.478	0.074	0.069	1.019	30	0.166	2.503	0.075	0.074	1.014	30	0.164	2.473	0.074	0.073

Jam Ke-	Variabel																	
	SCW 100 bar & 150 °C (duplo)						SCW 100 bar & 170 °C						SCW 100 bar & 170 °C (duplo)					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/ 1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/ 1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.007	30	0.178	2.679	0.080	0.080	1.012	30	0.163	2.453	0.074	0.073	1.0137	30	0.122	1.841	0.055	0.054
8	1.007	30	0.171	2.573	0.077	0.077	1.012	30	0.124	1.871	0.056	0.055	1.0137	30	0.115	1.731	0.052	0.051
12	1.007	30	0.214	3.220	0.097	0.096	1.012	30	0.114	1.720	0.052	0.051	1.0137	30	0.127	1.916	0.057	0.057
16	1.007	30	0.158	2.373	0.071	0.071	1.012	30	0.116	1.751	0.053	0.052	1.0137	30	0.120	1.811	0.054	0.054
20	1.007	30	0.178	2.679	0.080	0.080	1.012	30	0.131	1.976	0.059	0.059	1.0137	30	0.120	1.811	0.054	0.054
24	1.007	30	0.162	2.443	0.073	0.073	1.012	30	0.145	2.187	0.066	0.065	1.0137	30	0.163	2.453	0.074	0.073

Jam Ke-	Variabel					
	SCW 100 bar & 190 °C					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
4	1.012	30	0.110	1.660	0.050	0.049
8	1.012	30	0.119	1.791	0.054	0.053
12	1.012	30	0.121	1.821	0.055	0.054
16	1.012	30	0.145	2.182	0.065	0.065
20	1.012	30	0.144	2.167	0.065	0.064
24	1.012	30	0.132	1.991	0.060	0.059

Tabel A.6 Konsentrasi, Massa dan *Yield* Gula Reduksi Hasil Hidrolisis Enzimatik pada Waktu 40 Menit

Jam Ke-	Variabel																	
	SCW 60 bar & 150 °C						SCW 60 bar & 150 °C (duplo)						SCW 60 bar & 170 °C					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)/1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/ 1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.014	30	0.095	1.430	0.043	0.042	1.007	30	0.106	1.600	0.048	0.048	1.012	30	0.111	1.675	0.050	0.050
8	1.014	30	0.093	1.399	0.042	0.041	1.007	30	0.112	1.685	0.051	0.050	1.012	30	0.087	1.314	0.039	0.039
12	1.014	30	0.120	1.806	0.054	0.053	1.007	30	0.123	1.846	0.055	0.055	1.012	30	0.123	1.846	0.055	0.055
16	1.014	30	0.129	1.936	0.058	0.057	1.007	30	0.142	2.142	0.064	0.064	1.012	30	0.100	1.510	0.045	0.045
20	1.014	30	0.136	2.042	0.061	0.060	1.007	30	0.141	2.122	0.064	0.063	1.012	30	0.126	1.891	0.057	0.056
24	1.014	30	0.116	1.741	0.052	0.051	1.007	30	0.128	1.931	0.058	0.058	1.012	30	0.125	1.886	0.057	0.056

Jam Ke-	Variabel																	
	SCW 60 bar & 170 °C (duplo)						SCW 60 bar & 190 °C						SCW 60 bar & 190 °C (duplo)					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/ 1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/ 1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.0137	30	0.104	1.570	0.047	0.046	1.012	30	0.170	2.558	0.077	0.076	1.012	30	0.125	1.876	0.056	0.056
8	1.0137	30	0.149	2.242	0.067	0.066	1.012	30	0.150	2.257	0.068	0.067	1.012	30	0.128	1.931	0.058	0.057
12	1.0137	30	0.127	1.916	0.057	0.057	1.012	30	0.144	2.167	0.065	0.064	1.012	30	0.142	2.132	0.064	0.063
16	1.0137	30	0.126	1.891	0.057	0.056	1.012	30	0.149	2.247	0.067	0.067	1.012	30	0.147	2.217	0.067	0.066
20	1.0137	30	0.142	2.137	0.064	0.063	1.012	30	0.146	2.202	0.066	0.065	1.012	30	0.143	2.147	0.064	0.064
24	1.0137	30	0.140	2.112	0.063	0.062	1.012	30	0.130	1.956	0.059	0.058	1.012	30	0.141	2.127	0.064	0.063

Jam Ke-	Variabel																	
	SCW 80 bar & 150 °C						SCW 80 bar & 150 °C (duplo)						SCW 80 bar & 170 °C					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/ 1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/ 1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.0321	30	0.120	1.806	0.054	0.052	1.0321	30	0.191	2.869	0.086	0.083	1.0321	30	0.147	2.212	0.066	0.064
8	1.0321	30	0.130	1.956	0.059	0.057	1.0321	30	0.228	3.436	0.103	0.100	1.0321	30	0.161	2.428	0.073	0.071
12	1.0321	30	0.147	2.217	0.067	0.064	1.0321	30	0.201	3.020	0.091	0.088	1.0321	30	0.155	2.337	0.070	0.068
16	1.0321	30	0.119	1.786	0.054	0.052	1.0321	30	0.192	2.889	0.087	0.084	1.0321	30	0.156	2.353	0.071	0.068
20	1.0321	30	0.132	1.986	0.060	0.058	1.0321	30	0.166	2.498	0.075	0.073	1.0321	30	0.139	2.092	0.063	0.061
24	1.0321	30	0.157	2.358	0.071	0.069	1.0321	30	0.149	2.247	0.067	0.065	1.0321	30	0.138	2.077	0.062	0.060

Jam Ke-	Variabel																	
	SCW 80 bar & 170 °C (duplo)						SCW 80 bar & 190 °C						SCW 80 bar & 190 °C (duplo)					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/ 1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/ 1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.1908	30	0.104	1.565	0.047	0.039	1.0821	30	0.106	1.590	0.048	0.044	1.019	30	0.105	1.585	0.048	0.047
8	1.1908	30	0.099	1.490	0.045	0.038	1.0821	30	0.122	1.841	0.055	0.051	1.019	30	0.109	1.635	0.049	0.048
12	1.1908	30	0.117	1.756	0.053	0.044	1.0821	30	0.128	1.926	0.058	0.053	1.019	30	0.119	1.791	0.054	0.053
16	1.1908	30	0.159	2.398	0.072	0.060	1.0821	30	0.122	1.836	0.055	0.051	1.019	30	0.124	1.866	0.056	0.055
20	1.1908	30	0.111	1.675	0.050	0.042	1.0821	30	0.130	1.956	0.059	0.054	1.019	30	0.136	2.042	0.061	0.060
24	1.1908	30	0.119	1.791	0.054	0.045	1.0821	30	0.125	1.886	0.057	0.052	1.019	30	0.143	2.157	0.065	0.063

Jam Ke-	Variabel																	
	SCW 100 bar & 150 °C						SCW 100 bar & 150 °C (duplo)						SCW 100 bar & 170 °C					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/ 1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/ 1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.014	30	0.166	2.493	0.075	0.074	1.007	30	0.159	2.393	0.072	0.071	1.012	30	0.178	2.674	0.080	0.079
8	1.014	30	0.233	3.506	0.105	0.104	1.007	30	0.135	2.031	0.061	0.061	1.012	30	0.221	3.331	0.100	0.099
12	1.014	30	0.180	2.714	0.081	0.080	1.007	30	0.141	2.117	0.064	0.063	1.012	30	0.158	2.378	0.071	0.070
16	1.014	30	0.137	2.062	0.062	0.061	1.007	30	0.206	3.100	0.093	0.092	1.012	30	0.150	2.257	0.068	0.067
20	1.014	30	0.178	2.684	0.081	0.079	1.007	30	0.155	2.327	0.070	0.069	1.012	30	0.186	2.799	0.084	0.083
24	1.014	30	0.174	2.623	0.079	0.078	1.007	30	0.166	2.503	0.075	0.075	1.012	30	0.177	2.663	0.080	0.079

Jam Ke-	Variabel																	
	SCW 100 bar & 170 °C (duplo)						SCW 100 bar & 190 °C						SCW 100 bar & 190 °C (duplo)					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/1000	(5/1)				(3 x Slope)	(4 x 2)/1000	(5/1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.0137	30	0.169	2.543	0.076	0.075	1.012	30	0.166	2.498	0.075	0.074	1.012	30	0.187	2.819	0.085	0.084
8	1.0137	30	0.210	3.155	0.095	0.093	1.012	30	0.134	2.016	0.060	0.060	1.012	30	0.234	3.521	0.106	0.104
12	1.0137	30	0.167	2.508	0.075	0.074	1.012	30	0.160	2.408	0.072	0.071	1.012	30	0.178	2.674	0.080	0.079
16	1.0137	30	0.205	3.080	0.092	0.091	1.012	30	0.205	3.085	0.093	0.091	1.012	30	0.210	3.160	0.095	0.094
20	1.0137	30	0.149	2.247	0.067	0.067	1.012	30	0.156	2.342	0.070	0.069	1.012	30	0.176	2.648	0.079	0.079
24	1.0137	30	0.157	2.368	0.071	0.070	1.012	30	0.187	2.809	0.084	0.083	1.012	30	0.176	2.648	0.079	0.079

Tabel A.7 Konsentrasi, Massa dan *Yield* Gula Reduksi Hasil Hidrolisis Enzimatis pada Waktu 20 Menit

Jam Ke-	Variabel																	
	SCW 60 bar & 150 °C						SCW 60 bar & 150 °C (duplo)						SCW 60 bar & 170 °C					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/ 1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/ 1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.0321	30	0.148	2.222	0.067	0.065	1.0321	30	0.170	2.558	0.077	0.074	1.0321	30	0.101	1.520	0.046	0.044
8	1.0321	30	0.139	2.092	0.063	0.061	1.0321	30	0.119	1.791	0.054	0.052	1.0321	30	0.102	1.540	0.046	0.045
12	1.0321	30	0.159	2.388	0.072	0.069	1.0321	30	0.160	2.403	0.072	0.070	1.0321	30	0.122	1.836	0.055	0.053
16	1.0321	30	0.145	2.187	0.066	0.064	1.0321	30	0.145	2.187	0.066	0.064	1.0321	30	0.109	1.645	0.049	0.048
20	1.0321	30	0.148	2.222	0.067	0.065	1.0321	30	0.151	2.267	0.068	0.066	1.0321	30	0.118	1.776	0.053	0.052
24	1.0321	30	0.135	2.026	0.061	0.059	1.0321	30	0.151	2.267	0.068	0.066	1.0321	30	0.124	1.861	0.056	0.054

Jam Ke-	Variabel																	
	SCW 60 bar & 170 °C (duplo)						SCW 60 bar & 190 °C						SCW 60 bar & 190 °C (duplo)					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/ 1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/ 1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.1908	30	0.106	1.600	0.048	0.040	1.0821	30	0.139	2.092	0.063	0.058	1.019	30	0.110	1.655	0.050	0.049
8	1.1908	30	0.118	1.776	0.053	0.045	1.0821	30	0.134	2.011	0.060	0.056	1.019	30	0.112	1.690	0.051	0.050
12	1.1908	30	0.118	1.771	0.053	0.045	1.0821	30	0.133	1.996	0.060	0.055	1.019	30	0.136	2.052	0.062	0.060
16	1.1908	30	0.118	1.776	0.053	0.045	1.0821	30	0.119	1.796	0.054	0.050	1.019	30	0.131	1.971	0.059	0.058
20	1.1908	30	0.107	1.605	0.048	0.040	1.0821	30	0.123	1.856	0.056	0.051	1.019	30	0.137	2.062	0.062	0.061
24	1.1908	30	0.128	1.931	0.058	0.049	1.0821	30	0.122	1.831	0.055	0.051	1.019	30	0.133	2.001	0.060	0.059

Jam Ke-	Variabel																	
	SCW 80 bar & 150 °C						SCW 80 bar & 150 °C (duplo)						SCW 80 bar & 170 °C					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/ 1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/ 1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.014	30	0.154	2.317	0.070	0.069	1.007	30	0.108	1.630	0.049	0.049	1.012	30	0.093	1.399	0.042	0.041
8	1.014	30	0.121	1.821	0.055	0.054	1.007	30	0.127	1.911	0.057	0.057	1.012	30	0.104	1.565	0.047	0.046
12	1.014	30	0.141	2.122	0.064	0.063	1.007	30	0.137	2.057	0.062	0.061	1.012	30	0.116	1.746	0.052	0.052
16	1.014	30	0.148	2.232	0.067	0.066	1.007	30	0.152	2.292	0.069	0.068	1.012	30	0.120	1.801	0.054	0.053
20	1.014	30	0.142	2.142	0.064	0.063	1.007	30	0.126	1.896	0.057	0.056	1.012	30	0.110	1.650	0.050	0.049
24	1.014	30	0.157	2.363	0.071	0.070	1.007	30	0.143	2.147	0.064	0.064	1.012	30	0.122	1.836	0.055	0.054

Jam Ke-	Variabel																	
	SCW 80 bar & 170 °C (duplo)						SCW 80 bar & 190 °C						SCW 80 bar & 190 °C (duplo)					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/ 1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/ 1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.0137	30	0.099	1.490	0.045	0.044	1.012	30	0.109	1.635	0.049	0.048	1.012	30	0.106	1.595	0.048	0.047
8	1.0137	30	0.100	1.500	0.045	0.044	1.012	30	0.098	1.475	0.044	0.044	1.012	30	0.120	1.811	0.054	0.054
12	1.0137	30	0.116	1.746	0.052	0.052	1.012	30	0.116	1.751	0.053	0.052	1.012	30	0.128	1.926	0.058	0.057
16	1.0137	30	0.117	1.761	0.053	0.052	1.012	30	0.112	1.680	0.050	0.050	1.012	30	0.118	1.776	0.053	0.053
20	1.0137	30	0.118	1.771	0.053	0.052	1.012	30	0.108	1.625	0.049	0.048	1.012	30	0.122	1.831	0.055	0.054
24	1.0137	30	0.116	1.741	0.052	0.052	1.012	30	0.118	1.776	0.053	0.053	1.012	30	0.127	1.916	0.057	0.057

Jam Ke-	Variabel																	
	SCW 100 bar & 150 °C						SCW 100 bar & 150 °C (duplo)						SCW 100 bar & 170 °C					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/ 1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/1)				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.014	30	0.141	2.122	0.064	0.063	1.007	30	0.154	2.317	0.070	0.069	1.012	30	0.147	2.217	0.067	0.066
8	1.014	30	0.146	2.202	0.066	0.065	1.007	30	0.143	2.147	0.064	0.064	1.012	30	0.173	2.598	0.078	0.077
12	1.014	30	0.160	2.413	0.072	0.071	1.007	30	0.153	2.302	0.069	0.069	1.012	30	0.150	2.257	0.068	0.067
16	1.014	30	0.139	2.087	0.063	0.062	1.007	30	0.145	2.182	0.065	0.065	1.012	30	0.139	2.092	0.063	0.062
20	1.014	30	0.147	2.207	0.066	0.065	1.007	30	0.145	2.187	0.066	0.065	1.012	30	0.144	2.172	0.065	0.064
24	1.014	30	0.129	1.941	0.058	0.057	1.007	30	0.137	2.062	0.062	0.061	1.012	30	0.142	2.137	0.064	0.063

Jam Ke-	Variabel																	
	SCW 100 bar & 170 °C (duplo)						SCW 100 bar & 190 °C						SCW 100 bar & 190 °C (duplo)					
	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)	Y	MH (gram)	VH (mL)	A	K (g/L)	MG (gram)/ 1000	Y
				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)/ 1000	(5/ 1)				(3 x Slope)	(4 x 2)	(5/ 1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1.0137	30	0.147	2.212	0.066	0.065	1.012	30	0.093	1.394	0.042	0.041	1.012	30	0.147	2.212	0.066	0.066
8	1.0137	30	0.146	2.202	0.066	0.065	1.012	30	0.141	2.122	0.064	0.063	1.012	30	0.158	2.378	0.071	0.070
12	1.0137	30	0.160	2.413	0.072	0.071	1.012	30	0.147	2.212	0.066	0.066	1.012	30	0.161	2.428	0.073	0.072
16	1.0137	30	0.131	1.976	0.059	0.058	1.012	30	0.127	1.911	0.057	0.057	1.012	30	0.151	2.277	0.068	0.068
20	1.0137	30	0.132	1.981	0.059	0.059	1.012	30	0.130	1.951	0.059	0.058	1.012	30	0.147	2.212	0.066	0.066
24	1.0137	30	0.125	1.881	0.056	0.056	1.012	30	0.131	1.966	0.059	0.058	1.012	30	0.148	2.232	0.067	0.066

Hasil gula reduksi terbaik pada tiap variabel dengan selang waktu tertentu yang ditunjukkan pada Tabel A.5-A.7 kemudian digunakan untuk menentukan massa total yang didapatkan dari hidrolisis enzimatik.

$$\begin{aligned} & \text{Massa Total Gula reduksi} \\ &= \text{Massa gula reduksi dalam 1 gram massa akhir SCW} \times \frac{\text{massa awal SCW}}{\text{massa awal enzimatik}} \end{aligned}$$

Contoh perhitungan pada variabel 60 bar; 150°C dan 20 menit

Massa gula reduksi = 0.0743 gram

Massa awal SCW = 6.000 gram

Massa awal hidrolisis = 1.013 gram

$$\begin{aligned} \text{Massa Total Gula reduksi} &= 0.0743 \text{ gram} \times \frac{6.000 \text{ gram}}{1.013 \text{ gram}} \\ &= 0.446 \text{ gram} \end{aligned}$$

Untuk perhitungan massa total gula reduksi hasil enzimatik dapat dilakukan dengan perhitungan yang sama. Hasil perhitungan massa total gula reduksi ditunjukkan pada Tabel A.8

Tabel A.8 Maksimum Konsentrasi dan Massa Gula Reduksi
Hasil Hidrolisis Enzimatik

Variabel hidrolisis			Absorbansi	Konsentrasi Gula Reduksi	Massa gula reduksi	%Yield (g/ g gula)	Total massa Gula reduksi
t (min)	P (bar)	T (°C)					
20	60	150	0,1545	2,325	0,0743	7,43	0,446
		170	0,1200	1,806	0,0569	5,69	0,341
		190	0,1230	1,851	0,0623	6,23	0,374
	80	150	0,1645	2,475	0,0697	6,97	0,418
		170	0,1260	1,896	0,0542	5,42	0,325
		190	0,1380	2,077	0,0555	5,55	0,333
	100	150	0,1570	2,363	0,0709	7,09	0,425
		170	0,1665	2,505	0,0752	7,52	0,451
		190	0,1540	2,317	0,0695	6,95	0,417
40	60	150	0,1390	2,092	0,0628	6,28	0,377
		170	0,1375	2,069	0,0621	6,21	0,372
		190	0,1585	2,385	0,0716	7,16	0,429
	80	150	0,1925	2,897	0,0869	8,69	0,521
		170	0,1600	2,408	0,0722	7,22	0,433
		190	0,1365	2,054	0,0616	6,16	0,370
	100	150	0,2195	3,303	0,0991	9,91	0,595
		170	0,2155	3,243	0,0973	9,73	0,584
		190	0,2195	3,303	0,0991	9,91	0,595
60	60	150	0,1485	2,235	0,0670	6,70	0,402
		170	0,1177	1,770	0,0531	5,31	0,319
		190	0,1757	2,643	0,0793	7,93	0,476

	80	150	0,1335	2,009	0,0603	6,03	0,362
		170	0,1810	2,724	0,0817	8,17	0,490
		190	0,1780	2,679	0,0804	8,04	0,482
	100	150	0,1990	2,995	0,0898	8,98	0,539
		170	0,1630	2,453	0,0736	7,36	0,442
		190	0,1450	2,182	0,0655	6,55	0,393

F. Rancangan Eksperimen (*Design of Experiment*)

Tampilan variable input sesuai dengan rancangan metode box behnken dapat dilihat pada table A.9.

Tabel A.9 Rancangan Desain Tiga Faktor metode *box behnken*

↓	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
	StdOrder	RunOrder	PtType	Blocks	TEKANAN	SUHU	WAKTU	KONSENTRASI
1	1	1	2	1	80	150	40	5,3170
2	2	2	2	1	100	150	40	5,0581
3	3	3	2	1	80	190	40	3,2102
4	4	4	2	1	100	190	40	1,4548
5	5	5	2	1	80	170	20	5,8932
6	6	6	2	1	100	170	20	6,0694
7	7	7	2	1	80	170	60	1,8258
8	8	8	2	1	100	170	60	2,6334
9	9	9	2	1	80	150	20	5,7534
10	10	10	2	1	80	190	20	4,7802
11	11	11	2	1	80	150	60	4,2887
12	12	12	2	1	80	190	60	0,8276
13	13	13	0	1	80	170	40	4,2335
14	14	14	0	1	80	170	40	6,3352
15	15	15	0	1	80	170	40	5,8929
16	16	16	2	1	80	150	40	5,6179
17	17	17	2	1	100	150	40	6,6362
18	18	18	2	1	80	190	40	3,1049
19	19	19	2	1	100	190	40	0,8878
20	20	20	2	1	80	170	20	4,1583
21	21	21	2	1	100	170	20	5,6029
22	22	22	2	1	80	170	60	2,4629
23	23	23	2	1	100	170	60	1,9412
24	24	24	2	1	80	150	20	5,2417
25	25	25	2	1	80	190	20	3,5614
26	26	26	2	1	80	150	60	4,0780
27	27	27	2	1	80	190	60	1,0935
28	28	28	0	1	80	170	40	5,1314
29	29	29	0	1	80	170	40	3,1400
30	30	30	0	1	80	170	40	3,6567

Tabel A.10 Nilai uji statistik Kolmogrov-Smirnov

$1 - \alpha$ n	0.9	0.95	0.99
1	0.950	0.975	0.995
2	0.776	0.842	0.929
3	0.636	0.708	0.829
4	0.565	0.624	0.734
5	0.510	0.563	0.669
6	0.468	0.520	0.617
7	0.436	0.483	0.576
8	0.410	0.454	0.542
9	0.387	0.430	0.513
10	0.369	0.409	0.489
11	0.352	0.391	0.468
12	0.338	0.375	0.450
13	0.325	0.361	0.432
14	0.314	0.349	0.418
15	0.304	0.338	0.404
16	0.295	0.327	0.392
17	0.286	0.318	0.381
18	0.279	0.309	0.371
19	0.271	0.301	0.361
20	0.265	0.294	0.352

$1 - \alpha$ n	0.9	0.95	0.99
21	0.259	0.287	0.344
22	0.253	0.281	0.337
23	0.247	0.275	0.330
24	0.242	0.269	0.323
25	0.238	0.264	0.317
26	0.233	0.259	0.311
27	0.229	0.254	0.305
28	0.225	0.250	0.300
29	0.221	0.246	0.295
30	0.218	0.242	0.290
31	0.214	0.238	0.285
32	0.211	0.234	0.281
33	0.208	0.231	0.277
34	0.205	0.227	0.273
35	0.202	0.224	0.269
> 35	$\frac{1.224}{\sqrt{n}}$	$\frac{1.358}{\sqrt{n}}$	$\frac{1.628}{\sqrt{n}}$

$$\text{for } n > 35: \frac{-0.5 \cdot \ln\left(\frac{\alpha}{2}\right)}{\sqrt{n}}$$

Untuk jumlah data sebanyak 30 (n) dengan nilai $1 - \alpha = 0,95$ nilai statistik Kolmogrov-Smirnov adalah 0,242.

RIWAYAT HIDUP PENULIS



Enrico Gautama, putra dari pasangan Bapak Hendrawan Sutiono dan Ibu Erida Wydiamala. Lahir pada tanggal 2 November 1995. Penulis mulai mengenyam pendidikan di SD Negeri Banyuajuh 3 Kamal (2001-2007), SMP Negeri 1 Kamal (2007-2010), SMA Negeri 1 Bangkalan (2010-2013), dan S1 Teknik Kimia FTI-ITS (2013-2017) yang kemudian pada tahun 2016 mulai melakukan penelitian di Laboratorium Teknologi Biokimia dan menulis karya berjudul: “Produksi Gula Reduksi dari Sabut Kelapa Menggunakan Kombinasi Teknologi Air Subkritis (dengan Gas Penekan N_2) dan Hidrolisis Enzimatik”.

E-mail penulis : enricogautamak53@gmail.com
No. HP : +6282338629580



Aulia Karima, putri dari pasangan Bapak Imam Sungkana dan Ibu Widiarti. Lahir pada tanggal 11 Januari 1995. Penulis mulai mengenyam pendidikan di SD Islam Al-Azhar BSD (2001-2007), SMP Islam Al-Azhar BSD (2007-2010), SMA Negeri 2 Kota Tangerang Selatan (2010-2013), dan S1 Teknik Kimia FTI-ITS (2013-2017) yang kemudian pada tahun 2016 mulai melakukan penelitian di Laboratorium Teknologi Biokimia dan menulis karya berjudul: “Produksi Gula Reduksi dari Sabut Kelapa Menggunakan Kombinasi Teknologi Air Subkritis (dengan Gas Penekan N_2) dan Hidrolisis Enzimatik”.

E-mail penulis : auliakarima11@gmail.com
No. HP : +6287871547872

Halaman ini sengaja dikosongkan